

**ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт
биологического приборостроения»
ФМБА России**

**ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи»
Минздрава России**

Э. И. Коренберг, В. Г. Помелова, Н. С. Осин

Природноочаговые инфекции, передающиеся
ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ

Под редакцией

академика РАМН А.Л. Гинцбурга

академика РАМТН В.Н. Злобина

Москва, 2013

E. Korenberg, V. Pomelova, N. Osin

Infections with Natural Focality Transmitted by
IXODID TICKS

Edited by

Academician RAMS A. Ginzburg

Academician RAMTS V. Zlobin

Moscow, 2013

УДК 616.993-002.942.1

ББК 51.901.1

К66

В пособии рассмотрены проблемы эпизоотологии, эпидемиологии, профилактики и лабораторной диагностики клещевого энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза человека, моноцитарного эрлихиоза человека. Представлены современные представления о природной очаговости инфекций и сведения о микст-инфекциях, передающихся иксодовыми клещами.

Книга подготовлена и издана в рамках серии специализированных изданий, предусмотренных Федеральной целевой программой «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)».

Предназначена для специалистов, работающих в области эпизоотологии, эпидемиологии, профилактики, диагностики и терапии заболеваний, передающихся иксодовыми клещами.

Рецензенты:

Ананьина Ю.В. — член-корреспондент РАМН, профессор

Тарасевич И.В. — академик РАМН, профессор

Предисловие

Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, среди которых открыт в 1937 году в нашей стране клещевой энцефалит, вызываемый вирусом, иксодовые клещевые боррелиозы или заболевания группы болезни Лайма с окончательно установленной этиологией в США в 1984 году, а также моноцитарный эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз, ставшие известными на несколько лет позднее, привлекают особое внимание исследователей и практикующих врачей большинства стран Северной Америки и Евразии в связи с их большой эпидемической значимостью. В России эти заболевания в совокупности ежегодно составляют подавляющую часть всех регистрируемых случаев природноочаговых инфекций. Регулярно им посвящаются всероссийские и международные конференции, сотни публикаций в отечественных и зарубежных научных журналах, включая высокорейтинговые международные издания, а также специальные сборники трудов и монографии.

Несмотря на обилие использованных литературных источников, опубликованных в последние 75 лет, книга не претендует на их капитальный обзор и, тем более, не относится к числу реферативных компиляций. В издании через призму общих представлений о природной очаговости инфекций до известной степени подведен современный итог результатов, полученных несколькими поколениями исследователей по узловым аспектам проблемы, обозначенной в ее названии. Это специализированное издание подготовлено специалистами двух научно-исследовательских учреждений (ФГУП «ГосНИИ биологического приборостроения» ФМБА России и ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России), успешно сотрудничающими на протяжении более 10 лет. Издание предназначено для повышения уровня знаний и профессиональных навыков специалистов, работающих в области эпизоотологии, эпидемиологии, профилактики, диагностики и терапии заболеваний, передающихся иксодовыми клещами.

Понятие «биологическая безопасность» в современной трактовке охватывает теорию и практику защиты человека от опасных биотических факторов. Природноочаговым инфекциям свойственно многообразие: наличие в естественных экосистемах патогенных для человека микроорганизмов и их резервуарных хозяев; опасность за-

носа и последующего распространения возбудителей мигрирующими животными; возможность завоза патогенов в связи с усиливающейся миграцией населения, перемещением домашних животных и развитием туризма. Существует также потенциальная опасность применения патогенов в террористических целях. Это обуславливает необходимость создания эффективной системы биологической защиты, которая базируется на фундаментальных и прикладных медико-биологических исследованиях. Помимо основ эпизоотологии и эпидемиологии природноочаговых инфекций, она включает научно обоснованную систему эпиднадзора, оценку интенсивности контакта населения с природными очагами и риска заражения, анализ современного состояния методов лабораторной диагностики заболеваний, а также путей и современных тенденций их стандартизации и совершенствования, оценку способов и стратегии профилактики и лечения. Все эти аспекты проблемы биологической защиты применительно к инфекциям, экологически связанным с иксодовыми клещами и наиболее распространенным в России, с достаточной степенью детальности рассмотрены в данной книге.

Современные тенденции в развитии лабораторно-диагностических методов связаны с переходом от тест-систем, работающих по принципу «один тест — маркер одного заболевания», к системам мультиплексного анализа, в которых реализуется принцип «один тест — маркеры нескольких (многих) заболеваний». При лабораторной диагностике инфекций, передающихся иксодовыми клещами, такой подход особенно перспективен в связи с возможностью микст-инфицирования и возникновения смешанных инфекций после укуса клеща. В специальном разделе книги на примере иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита описана разработанная авторами новая эффективная мультиплексная технология ФОСФАН для серологической диагностики, индикации и идентификации различных патогенов, включая возбудителей особо опасных инфекций.

Группа авторов книги представляет собой удачное сочетание специалистов, которые имеют многолетний уникальный опыт в изучении естественных паразитарных систем возбудителей, передающихся иксодовыми клещами, в эпидемиологии и профилактике вызываемых ими инфекций, а также в их лабораторной диагностике и разработке принципиально новых диагностических тестов и их технологии. Руководитель отдела природноочаговых инфекций и лаборатории переносчиков инфекций ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заслуженный деятель науки России, академик РАЕН, доктор биологических наук, профессор *Эдуард Исаевич Коренберг* занимается научными и практическими проблемами, связанными с иксодовыми клещами, уже более 50 лет. В середине 1960-х–начале 1970-х годов он руководил противоэпидемическим отрядом по борьбе с клещевым энцефалитом в Удмуртии, затем в течение 10 лет возглавлял специальный отряд, организованный для разведки и оценки риска заражения природноочаговыми инфекциями в зоне строительства восточной части Байкало-Амурской магистрали. С середины 80-х годов по программам, утвержденным Министерством здравоохранения РСФСР, под его руководством, в комплексе с местными лечебными и профилактически-

ми организациями здравоохранения, действовали первые в нашей стране специальные экспедиции по изучению инфекций группы болезни Лайма и клещевого энцефалита в Ленинградской области, а с 1991 года — в Пермском крае. Он — автор более 500 научных работ и 3 книг; за цикл исследований «Экология переносчиков, районирование ареала и эпизоотология клещевого энцефалита» удостоен премии имени П. Г. Сергиева президиума АМН СССР, а за цикл исследований «Природная очаговость иксодовых клещевых боррелиозов» — премии имени Е. Н. Павловского президиума РАН.

Руководитель лаборатории молекулярной диагностики ФГУП «ГосНИИ БП» ФМБА России, доктор биологических наук *Вера Гавриловна Помелова* более 30 лет занимается разработкой методов и средств индикации и лабораторной диагностики заболеваний, включая инфекции, передающиеся иксодовыми клещами; руководит проектом по разработке методов серологической диагностики иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита на основе технологии мультиплексного флуоресцентного анализа ФОСФАН™. Она — автор более 70 публикаций, соавтор 2 книг и 6 патентов. Под ее руководством разработан и внедрен в клиническую практику ряд иммунолюминесцентных наборов реагентов для диагностики инфекционных и соматических заболеваний взрослого населения и новорожденных. Руководитель отдела биологического микроанализа ФГУП «ГосНИИ БП» ФМБА России, доктор биологических наук *Николай Сергеевич Осин* — ведущий специалист в области разработки средств специфической индикации, соавтор руководства по специфической индикации патогенов, руководитель работ по созданию и практическому использованию в медицинской практике технологии мультиплексного флуоресцентного анализа ФОСФАН™. Под его руководством создан ряд изделий медицинской техники и наборов реагентов для лабораторной клинической диагностики. Автор более 100 публикаций и 30 патентов.

Собственный разносторонний исследовательский и практический опыт, в полной мере использованный авторами при подготовке монографии, дает им право на неординарное видение некоторых узловых проблем эпизоотологии, эпидемиологии, диагностики и профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Их точка зрения, которая нередко отличается от широко распространенных в литературе взглядов и не всегда обоснованных утверждений, порой высказана в остро дискуссионной форме. Независимо от степени правоты авторов в каждом конкретном случае это, несомненно, обнажает еще слабо изученные стороны проблемы в целом и будет способствовать пониманию ее сложности и современного состояния.

А. Л. Гинцбург, академик РАМН
В. Н. Злобин, академик РАМТН

От авторов

Данное издание подготовлено в соответствии с Федеральной целевой программой «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)» сотрудниками ФГБУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России (Э. И. Коренберг) и ФГУП «ГосНИИ биологического приборостроения» ФМБА России (В. Г. Помелова, Н. С. Осин). Название пособия — «Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами» — несколько шире, чем содержание, поскольку круг микроорганизмов, в той или иной степени экологически связанных с иксодовыми клещами и передающихся ими, значительно разнообразнее тех, которые затронуты в книге. Только в Европе, например, к настоящему времени (Hubálek, Rudolf, 2012) у клещей обнаружено 27 различных вирусов (tick-borne viruses или «tiboviruses»), причем к этому нужно добавить множество таксономически различных бактерий, об общем количестве которых пока можно лишь догадываться. Патогенность для человека большинства этих микроорганизмов не доказана и, по всей видимости, не будет доказана, поскольку они ею не обладают. Но даже из числа облигатно-трансмиссивных инфекций, передающихся иксодовыми клещами и распространенных в России и Евразии в целом, в книге рассмотрены только те, которые по числу ежегодно регистрируемых случаев представляют наибольшую эпидемическую опасность среди всех природноочаговых зоонозов. К ним относятся иксодовые клещевые боррелиозы, клещевой энцефалит, гранулоцитарный анаплазмоз и моноцитарный эрлихиоз человека, а также микст-инфекции, вызываемые различными сочетаниями возбудителей этих заболеваний.

При подготовке книги наряду с обширной литературой использованы собственные материалы авторов, накопленные за многие годы исследований проблем эпизоотологии, эпидемиологии, лабораторной диагностики и профилактики этих заболеваний. Вместе с тем мы посчитали, что по ряду инфекций, связанных с иксодовыми клещами, наших собственных данных недостаточно, совершенно осознанно отказались от реферативно-компилятивного изложения ситуации

по таким нозологическим формам и предлагаем заинтересованным читателям обратиться к монографиям компетентных авторов. К числу таких природноочаговых инфекций и соответствующих изданий относятся Крымская-Конго (Мале-ев и др., 2003; Смирнова, 2007) и омская (Харитонов, Леонов, 1978) геморрагические лихорадки, клещевые риккетсиозы (Řeháček and Tarasevich, 1988; Рудаков и др., 2011), а также астраханская пятнистая лихорадка (Тарасевич, 2002).

В процессе подготовки рукописи мы стремились к согласованию наших взглядов, в особенности по тем аспектам эпидемиологии и клинико-лабораторной диагностики описываемых инфекций, которые представляются нам принципиально важными. Тем не менее не исключено, что внимательный читатель может обнаружить в разных частях книги некоторые незначительные отличия в позиции авторов. Это вполне естественно, поскольку сложный раздел 7, посвященный целям, задачам, а также традиционным, более современным и перспективным методам лабораторной диагностики, написан В. Г. Помеловой и Н. С. Осиним, а остальные разделы, включая 7.4.4. — Э. И. Коренбергом. Ему же принадлежит общий план и рубрикация книги, за исключением раздела 7, структура которого предложена В. Г. Помеловой.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории молекулярной диагностики ФГУП «ГосНИИ БП» ФМБА России Н. И. Бекман, Т. А. Быченковой, Т. А. Канаевой, С. Ю. Ларичевой, Т. Ю. Шарафудиновой, принимавшим участие в разработке методов индикации, идентификации патогенов и лабораторной диагностики заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, а также руководителю лаборатории технических средств индикации А. С. Соколову и всем специалистам этой лаборатории, которые занимались созданием приборов для биологического микроанализа на основе технологии ФОСФАН.

В книге использованы полевые экспедиционные и лабораторные материалы по этиологии, эпизоотологии, эпидемиологии описываемых инфекций, которые на протяжении нескольких десятков лет были получены и опубликованы при участии многих сотрудников отдела природноочаговых инфекций, а также отдела эпидемиологии бывшего НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, затем РАМН, а ныне ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России. Среди них в разные годы были Ю. В. Ананьина, П. М. Барановский, Т. А. Воронцова, Н. Б. Горелова, З. М. Жмаева, А. А. Земская, М. И. Калинин, Я. И. Ковалевская, В. Н. Крючечников, И. В. Кузиков, Н. Н. Лебедева, М. Л. Левин, В. Ю. Литвин, Г. И. Медведева, Г. Г. Москвитина, В. В. Нефедова, Н. А. Никитина, А. А. Пчелкина, Л. Г. Суворова, Н. В. Тупикова, И. А. Фадеева, И. А. Шагинян, Т. В. Шишова, С. В. Щербаков, Е. В. Юркова. Своей деятельностью эти люди заслужили добрую память и искреннюю благодарность. Многих из них, к сожалению, уже нет с нами.

С большой благодарностью Э. И. Коренберг вспоминает своего учителя, профессора Валента Викторовича Кучерука, под руководством которого более 50 лет назад он начал заниматься природной очаговостью клещевого энцефалита, и чьи идеи, а также методические подходы к целенаправленному сбору данных

и их обработке во многом определили дальнейшую научную деятельность. Практически все эти годы вплоть до настоящего времени в организации и проведении экспедиционных и камеральных исследований, а также в осмыслении их результатов самое активное участие принимал и продолжает принимать кандидат биологических наук Юрий Владимирович Ковалевский, которому хочется выразить особую благодарность.

На протяжении последних 20 лет исследования по клинко-лабораторной диагностике, эпидемиологии и профилактике инфекций, описываемых в книге, авторы проводили в тесном контакте и содружестве с сотрудниками кафедры инфекционных болезней Пермской государственной медицинской академии им. Е. А. Вагнера и Пермской городской, а ныне краевой, клинической инфекционной больницы. Авторы книги благодарны за многолетнее плодотворное сотрудничество заведующей кафедры, доктору медицинских наук, профессору Н. Н. Воробьевой и главному врачу больницы, кандидату медицинских наук В. И. Фризену, а также их сотрудникам И. И. Альповой, М. В. Афанасьевой, Е. В. Григорян, Е. Г. Козловой, Л. М. Наумовой, В. В. Николенко, В. Ю. Тетерину.

Как уже отметили в предисловии академик РАМН А. Л. Гинцбург и академик РАМТН В. Н. Злобин, основная цель книги — повышение уровня знаний и профессиональных навыков специалистов, работающих в области эпизоотологии, эпидемиологии, профилактики, диагностики и терапии заболеваний, передающихся иксодовыми клещами. Мы надеемся также, что приведенные в ней данные впоследствии могут быть использованы при разработке методических руководств по профилактике, диагностике и лечению соответствующих природно-очаговых заболеваний.

Содержание

Предисловие	5
От авторов.....	8
1. Современные представления о природной очаговости болезней.....	16
1.1. Этапы развития учения	16
1.2. Основы эпизоотологии и эпидемиологии	20
1.3. Происхождение патогенности микроорганизмов для человека	35
1.4. Пути появления «новых» природноочаговых инфекций	50
1.5. Значение инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в инфекционной патологии	52
1.6. Литература.....	54
2. Клещевой энцефалит (КЭ)	61
2.1. Определение. Название нозологической формы. Краткая историческая справка	61
2.2. Возбудитель	67
2.2.1. Таксономия. Общая характеристика вируса	67
2.2.2. Внутривидовое разнообразие	68
2.3. Распространение природных очагов.....	71
2.4. Эпизоотология.....	78
2.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики вируса	78
2.4.2. Цикл развития основных переносчиков и жизненная схема вируса...95	
2.4.3. Вертикальная и горизонтальная передача вируса	100
2.4.4. Зараженность и индивидуальная инфицированность клещей	104
2.4.5. Обобщенная модель эпизоотического процесса	108
2.4.6. Пространственная структура природных очагов.....	113
2.5. Эпидемиология.....	116
2.5.1. Источники возбудителя.....	116

2.5.2. Механизмы и пути передачи возбудителя и восприимчивость людей.....	118
2.5.3. Причины и интенсивность контакта населения с природными очагами	119
2.5.4. Заболеваемость	123
Сезонность	124
Годовой уровень и его изменения	131
Причины «рекордных» пиков	137
2.6. Клинические проявления.....	150
2.7. Иммуитет	155
2.8. Лечение	158
2.9. Литература.....	160
3. Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ).....	174
3.1. Определение. Название группы нозологических форм. Краткая историческая справка	174
3.2. Возбудители.....	182
3.2.1. Таксономия и общая характеристика боррелий.....	182
3.2.2. Видовое и внутривидовое разнообразие.....	187
3.3. Распространение природных очагов.....	195
3.4. Эпизоотология.....	198
3.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики боррелий.....	198
3.4.2. Жизненная схема боррелий	204
3.4.3. Вертикальная и горизонтальная передача боррелий.....	206
3.4.4. Зараженность и индивидуальная инфицированность клещей	208
3.4.5. Особенности модели эпизоотического процесса	210
3.5. Эпидемиология	211
3.5.1. Источники, механизм и пути передачи возбудителя.....	211
3.5.2. Восприимчивость людей; причины и интенсивность их контакта с природными очагами	212
3.5.3. Заболеваемость	214
Сезонность	214
Годовой уровень и его изменения	214
Территориальное распределение	217
3.6. Клинические проявления.....	219
3.7. Иммуитет, боррелиемия и антигенемия.....	226
3.8. Лечение	230
3.9. Литература.....	232
4. Моноцитарный эрлихиоз (МЭЧ) и гранулоцитарный анаплазмоз (ГАЧ) человека ..	241
4.1. Определения. Названия нозологических форм. Краткая историческая справка	241

4.2. Возбудители	243
4.2.1. Таксономия.....	243
4.2.2. Внутривидовое разнообразие	246
4.3. Распространение природных очагов.....	247
4.4. Эпизоотология	247
4.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики патогенных для человека эрлихий и анаплазм	247
4.4.2. Горизонтальная и вертикальная передача возбудителей МЭЧ и ГАЧ; зараженность клещей	249
4.5. Эпидемиология	250
4.6. Клинические проявления МЭЧ и ГАЧ	252
4.7. Иммуитет и антигенемия	256
4.8. Лечение	258
4.9. Литература.....	260
5. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами	265
5.1. Введение	265
5.2. Биоценотические основы существования природноочаговых микст-инфекций	267
5.3. Взаимоотношения возбудителей в микст-инфицированных иксодовых клещах	268
5.4. Микст-зараженность иксодовых клещей и их хозяев	280
5.5. Пространственные отношения сопряженных паразитарных систем и динамика лоймопотенциала природных очагов	283
5.6. Заболеваемость микст-инфекциями, связанными с иксодовыми клещами	285
5.7. Клинические проявления и диагностика микст-инфекций.....	289
5.8. Литература.....	298
6. Мониторинг за состоянием природных очагов как основа эпиднадзора.....	304
6.1. Литература.....	312
7. Лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами	314
7.1. Цель и задачи лабораторной диагностики.....	314
7.1.1. Проблемы лабораторной диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ	315
7.1.2. Стратегия исследований.....	316
7.1.3. Стандартизация исследований.....	318
Преаналитический этап.....	318
Аналитический этап	319
Постаналитический этап	320
Проблемы стандартизации тестов для диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ.....	322

7.2. Прямая детекция возбудителя.....	323
7.2.1. Микроскопия	323
Иммунофлуоресцентная микроскопия для индикации вируса КЭ.....	323
Темнопольная микроскопия витальных препаратов (ИКБ).....	324
Микроскопия окрашенных фиксированных препаратов (ИКБ, ГАЧ, МЭЧ)	324
Микроскопия гистологических препаратов, импрегнированных серебром (ИКБ)..	325
7.2.2. Культивирование	325
Выделение вируса КЭ	325
Культивирование боррелий	326
Культивирование анаплазм и эрлихий	327
7.2.3. Преимущества, недостатки, ограничения и практическая целесообразность применения методов прямой детекции.....	328
7.3. Серологическая диагностика	328
7.3.1. Непрямая реакция иммунофлуоресценции (нРИФ)	329
Клещевой энцефалит	329
Иксодовые клещевые боррелиозы.....	329
Гранулоцитарный анаплазмоз и моноцитарный эрлихиоз человека.....	330
7.3.2. Иммуноферментный анализ (ИФА)	330
Рекомбинантные и пептидные антигены	332
Чувствительность и специфичность анализа.....	339
Коммерческие тест-системы на основе ИФА.....	345
7.3.3. Иммуноблот.....	348
Применение иммуноблота при заболеваниях группы ИКБ	349
Применение иммуноблота при ГАЧ и МЭЧ.....	351
7.3.4. Специфичность, чувствительность, ограничения и практическая целесообразность различных серологических методов	351
Чувствительность	351
Специфичность	355
Ограничения серологических тестов	356
Практическая целесообразность различных серологических тестов	356
7.3.5. Интерпретация результатов серологической диагностики	359
7.4. Детекция антигенов или нуклеиновой кислоты возбудителя	361
7.4.1. Молекулярные методы детекции (ПЦР)	361
Детекция РНК вируса КЭ.....	362
Детекция ДНК <i>B. burgdorferi sensu lato</i>	363
Детекция ДНК возбудителей ГАЧ и МЭЧ	364
Детекция спектра ДНК возбудителей.....	365
7.4.2. Детекция антигенов вируса КЭ	366
7.4.3. Чувствительность, специфичность, ограничения, практическая целесообразность применения молекулярных методов ...	367
7.4.4. Проблемы оценки положительных результатов	370

7.5. Перспективные методы лабораторной диагностики.	
Мультиплексный анализ.....	380
7.5.1. Уровень разработок в области мультиплексного анализа	382
7.5.2. Аппаратурно-методическое оснащение мультиплексного анализа	388
7.5.3. Применение мультиплексных тестов для серологической и ПЦР диагностики природноочаговых инфекций.....	395
7.5.4. Фосфоресцентный анализ (ФОСФАН).....	397
Принцип проведения ФОСФАН.....	399
Применение ФОСФАН для детекции патогенов	402
Применение ФОСФАН для выявления фрагментов кДНК (на примере вируса КЭ)	403
Диагностическая эффективность ФОСФАН при серологической диагностике КЭ и ИКБ.....	403
Применение ФОСФАН для выявления и дифференциации иммуногло- булинов G к арбовирусам	406
Применение ФОСФАН для выявления спектра антител при серологической диагностике ИКБ.....	409
Применение ФОСФАН для одновременного выявления иммуноглобулинов G к возбудителям ИКБ и КЭ	410
7.5.5. Детекция специфических антител в пробах цельной крови (или сывороток крови), высушенных на бумаге.....	411
7.6. Литература.....	415
8. Стратегия и тактика профилактики	432
8.1. Общие положения.....	432
8.2. Специфическая профилактика.....	433
8.2.1. Вакцинация.....	433
8.2.2. Серопрофилактика.....	440
8.3. Предупредительная терапия	442
8.4. Неспецифическая профилактика.....	445
8.4.1. Подавление популяций переносчика.....	445
8.4.2. Индивидуальная защита	448
8.4.3. Санитарное просвещение и информирование населения.....	450
8.5. Литература.....	452
9. Заключение	456

1. Современные представления о природной очаговости болезней

1.1. Этапы развития учения

На протяжении XIX века постепенно накапливались данные о естественных связях возбудителей ряда болезней с членистоногими и позвоночными животными, и к его концу уже вполне отчетливо оформилась так называемая трансмиссивная теория (Петрищева, 1972; Чеснова, 1974; Коренберг, 1983). Однако, как отметил С. А. Ноаре, эти данные «... представляли собой лишь массу фактов, касающихся отдельных заболеваний, ничем не связанных между собой». По мнению этого всемирно известного британского паразитолога, «учение акад. Е. Н. Павловского о природной очаговости впервые свело в стройную систему как прежние наблюдения, так и новые факты, выявленные его школой, создав, таким образом, научно обоснованную базу для понимания эпидемиологии и естественной истории инфекционных болезней и для рациональных мероприятий по борьбе с ними» (Гоар, 1960. С. 701).

Учение Е. Н. Павловского (рис. 1.1) о природной очаговости болезней, основные положения которого были впервые представлены в докладе на Общем собрании АН СССР (29 мая 1939 г.) и вскоре опубликованы (Павловский, 1939), возникло на стыке паразитологии, биоценологии, популяционной экологии, эпидемиологии и синтезировало положения этих, а также ряда других научных дисциплин. Его фундаментальная сущность, из которой следуют все остальные выводы, заключается в том, что возбудители ряда болезней, как любые другие биологические виды, возникли и существуют в природе первоначально независимо от человека под влиянием основных факторов эволюции (изменчивости, наследственности и естественного отбора), как нормальные сочлены естественных биоценозов, или, говоря современ-



Рис. 1.1. Академик Евгений Никанорович Павловский (1884–1965)

ным языком, естественных экосистем (Павловский, 1946, 1946а, 1948; Коренберг, 1983, 1986; Korenberg, 1989; Литвин, Коренберг, 1999).

Экологическая сущность проблемы существования возбудителей природно-очаговых болезней неоднократно подчеркивалась еще на заре их изучения (Павловский, 1945, 1946, 1947, 1948). «То, что теперь называют болезнями с природной очаговостью в своей основе, прежде всего, подведомственно методам эколого-паразитологических и биоценологических исследований» (Павловский, 1946а). При этом следует учитывать, что имеются как бы две различные системы объектов и понятий. Одна из них — микроорганизм, позвоночное, членистоногое, а другая — возбудитель, носитель (резервуарный хозяин), переносчик (Ралль, 1965).

В более четкой форме популяционно-биоценологические идеи по отношению к возбудителям болезней сформулировал В. Н. Беклемишев (1956), который предпринял первую попытку поставить на строго научную основу представления о популяции возбудителя, обосновал понятие «паразитарная система» и показал, что это — биоценологическая система, в которой взаимодействуют две или несколько популяций разных видов. Различные аспекты истории становления, развития, международного признания и влияния концепции Е. Н. Павловского на смежные научные дисциплины периодически публиковали ведущие специалисты (Петрищева, 1972; Галузо, 1975; Кучерук, 1976, 1982; Быховская-Павловская, 1981; Балашов, 1984, 1999; Rosicky, Daniel, 1989; Литвин, 1999; Литвин, Коренберг, 1999; Львов, Никитин, 1999; Коренберг, 2010 и др.). Объективно оценено и значение этой концепции для становления современной общей эпидемиологии (Беляков, Яфаев, 1989). В почти 75-летней истории учения условно можно вычленить 3 этапа, существенно различающихся толкованием его объема и содержания (Литвин, Коренберг, 1999; Коренберг, Литвин, 2010).

На первом этапе учение о природной очаговости болезней, вызревшее в значительной мере на базе трансмиссивной теории, охватывало только трансмиссивные зоонозы (инфекции и инвазии). В центре внимания исследователей были переносчики. Это нашло отражение уже в названиях как ранних, так и более поздних публикаций Е. Н. Павловского (1946, 1964 и др.) по данной проблеме. Постулировалось, что природные очаги структурно представлены обязательной триадой «возбудитель—переносчик—носитель». Факторы внешней среды (по отношению к паразитарным системам) учитывались постольку, поскольку они благоприятствовали или не препятствовали существованию компонентов очага (Павловский, 1939, 1946). «Существование природных очагов, — как постулировал Е. Н. Павловский (1946, С. 4), — обеспечивается тем, что возбудитель циркулирует в очаге из организма в организм... по схеме: животное-донор возбудителя—переносчик—животное-реципиент возбудителя». Функционирование природных очагов однозначно связывалось с непрерывной циркуляцией, т.е. с цепочкой передач возбудителя (во всяком случае, в период активности основного переносчика) как единственно возможным способом существования возбудителя в природе. Эта циркуляция ограничивалась наземными экосистемами тех

ландшафтов или зон, для которых данные трансмиссивные болезни эндемичны (Павловский, 1946, 1947б). Эпидемическое проявление природных очагов обуславливалось контактами отдельных людей или коллективов с территорией очага. На этом этапе к природноочаговым болезням человека причисляли клещевой и японский энцефалиты, лихорадку паппатачи, клещевой сыпной тиф, клещевой возвратный тиф, кожный и висцеральный лейшманиозы, некоторые гельминтозы, а также чуму, туляремию и бруцеллез, считавшиеся в то время почти облигатно-трансмиссивными. Принципиально важна общая позиция, сразу сформулированная Е. Н. Павловским (1946, С. 24): «болезни с природной очаговостью стары для природы и «новы» лишь в отношении времени и условий поражения ими людей и еще более «новы», если судить о времени, когда врачи научились правильно их распознавать». В первых же работах была проведена детальная типизация природных очагов по разным критериям, поставлены вопросы их палеогенезиса и эволюции болезней, рассмотрены условия реальной и потенциальной эпидемической опасности очагов. Второй этап развития учения ознаменовался, прежде всего, значительным расширением спектра болезней с природной очаговостью за счет нетрансмиссивных зоонозов, таких как лептоспирозы, сибирская язва, листериоз, сальмонеллезы, псевдотуберкулез, токсоплазмоз, бешенство, актиномикоз (Павловский, 1957, 1960; Петрищева, 1972). Значительно большее внимание исследователей привлекла роль позвоночных как носителей (резервуарных хозяев) возбудителей. Наиболее детально и всесторонне в эти годы была разработана природная очаговость лептоспирозов (Терских, 1952; Ананьин, 1954; Ананьин, Карасева, 1961). В. Н. Беклемишев (1956) предложил различать облигатно-трансмиссивные, факультативно-трансмиссивные и нетрансмиссивные инфекции. Vol. Černý (1966) разделил природноочаговые болезни на «трикомпонентные» (трансмиссивные) и «бикомпонентные» (нетрансмиссивные). На данном этапе фактически стало понятно, что не обязательно наличие переносчика как структурного компонента любого природного очага. Но в обобщенном виде существование очагов по-прежнему связывали с «непрерывностью перехода возбудителя болезни от доноров реципиентам, обеспечиваемой переносчиками», а прекращение циркуляции возбудителя означало затухание очага (Павловский, 1960). Были, однако, сформулированы и более широкие определения природного очага, уже свободные от этих ограничений: «участок географического ландшафта со свойственным ему биоценозом, среди особей которого циркулирует возбудитель болезни» (Павловский, 1957) или «популяция возбудителя вместе с поддерживающими ее существование популяциями позвоночных хозяев, а в случае трансмиссивных инфекций — также и членистоногих переносчиков» (Беклемишев, 1959а). Тем не менее, функционирование природных очагов при любых инфекциях еще однозначно связывали с циркуляцией возбудителя среди животных наземных экосистем. Хотя при лептоспирозах уже было доказано выведение возбудителя в почву (воду) и передача его водным путем в популяции грызунов (Ананьин, Карасева, 1961), речь пока шла лишь о возможности временного «со-

хранения» возбудителя во внешней среде или о почве как дополнительном резервуаре некоторых инфекций (Рахманин, 1973). Уже в 50–70-е годы прошлого века стало ясно, что природная очаговость в равной мере свойственна многим болезням сельскохозяйственных животных, рыб и растений (Галузо, 1954; Валента, 1956; Дык, 1956; Павловский, Галузо, 1956; Āerny, 1966; Петрищева, 1972).

Третий этап развития учения своими корнями связан с идеей В.И. Терских (1958) о сапронозах, резервуаром возбудителей которых служат почвы и водоемы. Она получила развитие в последние десятилетия благодаря тому, что были получены факты, совокупность которых не оставляет сомнений в том, что сапронозы в полной мере отвечают критериям природноочаговых инфекций (Литвин, 1986; Литвин и др., 1998; Пушкарева и др., 2010, 2012). Сапронозы — почти исключительно природноочаговые болезни. Их очаги, кроме наземных, представлены почвенными (клостридиозы, сибирская язва, псевдотуберкулез, листериоз, некоторые микобактериозы, ряд псевдомонозов, актиномикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, кокцидиоидомикоз и другие) и (или) водными экосистемами (легионеллез, холера и иные вибриозы, мелиоидоз, аэромоназы и др.), причем именно с двумя последними связаны основные местообитания и экологические ниши возбудителей сапронозных инфекций. Своеобразие паразитарных систем сапронозов состоит в связях их возбудителей с другими сочленами почвенных и водных биот, многие из которых служат их естественными хозяевами (Пушкарева, 1994; Литвин и др., 1998), а их паразитизм на наземных теплокровных носит эпизодический, случайный характер. Млекопитающие, как и человек, хотя и становятся жертвами возбудителей сапронозов, не определяют их существования в природе (Литвин, 1992; Литвин и др., 1998). Этот этап развития учения о природной очаговости болезней объективно показал, что в общем смысле для существования любого возбудителя инфекции в природном очаге наличие теплокровного носителя, как и переносчика, также совершенно не обязательно. Вместе с тем на нынешнем уровне знаний вряд ли можно четко отграничить природноочаговые сапронозы от «смежной» (или во многом сходной) группы нетрансмиссивных зоонозов, возбудители которых циркулируют в популяциях теплокровных хозяев, но могут иметь почвенную или водную фазу существования. Демонстративный пример — экологически разнообразная группа патогенных лептоспир. Одни из них (лептоспиры серогруппы *Grippotyphosa*), хотя и имеют широкий круг хозяев, способны к длительному существованию в почве (воде), что по экологическим чертам сближает их с возбудителями сапронозов. Для других лептоспир (серогруппы *Sejroe*) доказана строгая гостальная специфичность, а роль внешней среды в их экологии в связи с возможностью полового пути передачи не существенна. Между этими крайними вариантами известен градиент переходных форм (Ананьина, 1996).

Итак, по мере расширения знаний из числа обязательных признаков любого природного очага сначала выпал переносчик (нетрансмиссивные зоонозы), а затем и теплокровный носитель (почвенные и водные сапронозы). В общем случае единственным обязательным и специфическим компонентом любого природного

очага остается популяция возбудителя. Именно наличие возбудителя характеризует данную экосистему (совокупность экосистем) как природный очаг болезни. Потенциальные хозяева возбудителя (позвоночные, членистоногие и др. животные) могут быть сочленами и любых других экосистем, безопасных в отношении данного заболевания, и поэтому не являются специфическими компонентами природного очага. Это неизбежно привело к пересмотру и конкретизации содержания самого понятия «природный очаг» (см. раздел 1.2).

Многие важные аспекты функционирования и роли носителей и переносчиков пока остаются неясными и, несомненно, требуют дальнейшего изучения. В то же время для современного этапа развития концепции природной очаговости болезней характерен заметный перенос акцента в сторону возбудителя как ключевого и наименее изученного компонента «патобиоценоза». Необходимость этого была ясна уже достаточно давно (Коренберг, 1983, 1985; Литвин, 1983а), но реальная возможность появилась лишь сравнительно недавно, чему способствовало расширение арсенала современных молекулярно-биологических методов, применяющихся сейчас для изучения и диагностики возбудителей. ДНК-ДНК гибридизация, плазмидный анализ, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее модификации, включая ПЦР в режиме реального времени, полиморфизм длины фрагментов рестрикции (ПЦР-ПДРФ), анализ числа переменных локусных тандемных повторов (MLVA — multiple locus variable number tandem repeats analysis), секвенирование генома или, чаще, его различных участков, мультилокусный сиквенс-анализ (MLSA или МЛСА) и другие молекулярно-биологические методы, несомненно, открыли совершенно новые возможности для исследования феномена природной очаговости. Их активное применение в этих целях не только в научных исследованиях, но и в современной практической диагностической работе лабораторий санэпидслужбы и клинических стационаров (см. «Материалы...») — очень отрадное явление. В конечном счете оно выведет изучение паразитарных систем на совершенно другой уровень (Коренберг, 2010).

1.2. Основы эпизоотологии и эпидемиологии

Главное понятие парадигмы Е. Н. Павловского — «природный очаг». Его эпидемиологическая сущность, предопределившая чрезвычайно актуальное прикладное значение учения, состоит в том, что это место длительного естественного существования возбудителя в природе, где происходит заражение человека, если по тем или иным причинам он попадает в такой очаг.

С чисто терминологических позиций сочетание слов «природный очаг» очень близко понятию «эпидемический очаг» или «очаг заразной болезни» — одному из важнейших и издавна существовавших в общей эпидемиологии. По Л. В. Громашевскому (1965, С. 155) очаг заразной болезни «это место пребывания источника

инфекции с окружающей его территорией в тех пределах, в которых он способен в данной конкретной обстановке при данной инфекции передавать заразные начала окружающим». Современный «Эпидемиологический словарь», предназначенный для международной эпидемиологической ассоциации, постулирует, что термин «очаг инфекции (nidus) — может использоваться для описания любой гетерогенности распространения болезни, но обычно применяется к небольшому району, где условия способствуют возникновению и распространению заразной болезни» (Ласт, 2009). Не вдаваясь в анализ этих определений, уместно лишь подчеркнуть, что при заражении природноочаговыми заболеваниями непосредственный источник возбудителя для здорового человека в большинстве случаев — это членистоногое-переносчик, дикое позвоночное животное (носитель) или среда (точнее, элементы внешней среды) его обитания. Поэтому термин «природный очаг» оказался очень удачным в эпидемиологическом смысле. В обобщенной форме он уже сам по себе ориентирует на то, где находится очаг, как долго он существует, и что служит источником заразного начала для человека. Это способствовало распространению концепции природной очаговости болезней среди медиков, в особенности среди эпидемиологов. Но вопрос о том, какой смысл нужно вкладывать в этот термин, был предметом острых дискуссий специалистов, а его содержание постепенно уточнялось (Павловский, 1955, 1957; Беклемишев, 1959а; Воронов, 1967; Коренберг, 1983, 1986, 2010; Кучерук, Росицкий, 1984; Балашов, 2009). Эта дискуссия подробно проанализирована в двух известных публикациях Кучерука (1972, 1982), в которых изложена новая трактовка термина, принадлежащая самому их автору. В последней из них четко сформулировано, что конкретный природный очаг как относительно автономная биоценотическая система есть «явление индивидуальное, существующее в природе в одном экземпляре», причем его границы «могут быть установлены на местности и показаны на карте».

Понятие «природный очаг» не следует противопоставлять понятию «антропургический очаг», как это вольно или невольно делается во многих публикациях. По Е. Н. Павловскому (1948а, С. 934), который предложил эти термины и их первые толкования, природные очаги могут быть «антропургические — связанные в своем происхождении и поддержании существования с какой-либо формой деятельности человека». Очень близкое определение содержит словарь основных терминов и понятий природной очаговости В. В. Кучерука и Б. Росицкого (1984): «очаг антропургический — природный очаг, возникший в результате преобразования природной среды человеком или существующий в преобразованной среде». Точный смысл этого понятия важен для понимания сути процессов не только в очагах классических облигатно-трансмиссивных зоонозов (см. раздел 2.5.4.), но и сапронозов (Литвин и др., 1998).

Исходя из изложенного в разделе 1.1, современная общая дефиниция понятия «природный очаг» должна быть свободна от необязательных признаков и искусственных ограничений. В этой связи **природный очаг заразной болезни — это любая естественная экосистема, компонентом которой является популяция**

возбудителя (Литвин и др., 1998; Литвин, Коренберг, 1999). Такому определению в полной мере отвечают любые природные очаги болезней человека, животных и растений. Оно представляет собой несколько уточненное и близкое по смыслу тем определениям, которые были предложены ранее (Коренберг, 1979а, 1983, 1985, 1991, 2010; Korenberg, 1982, 1989; Литвин и др., 1998). Ключевые слова приведенного выше определения — «популяция возбудителя», причем термин «популяция» употреблен в его общебиологическом значении (Биологический..., 1986; Yablokov, 1986; Тимофеев-Ресовский и др., 1973). Вопреки расхожим и мало обоснованным мнениям, оно подходит не только для эукариотов, но и для прокариотов (Бондаренко, Яблочков, 1986). Эпидемиологи также пришли к выводу, что определение эпидемического очага следует выводить из понятия популяции возбудителя (Беляков, 1985; Беляков, Яфаев, 1989).

Определенные трудности возникают при разграничении популяций возбудителя (т.е. конкретных природных очагов), как и любых других популяций. Наиболее реальный путь — выявление пространственно-территориальных преград, которые обеспечивают относительную автономность популяции (Тимофеев-Ресовский и др., 1973; Yablokov, 1986). Уже показано, что этим способом можно определить границы конкретных природных очагов. Несомненно, применительно к различным природноочаговым инфекциям требуется специальная методическая проработка такого подхода. Но ее сегодняшнее несовершенство — не повод, чтобы связывать популяционно-биоценотический характер понятия природный очаг с административно-территориальными единицами любого ранга и называть Кировскую область, например, природным очагом клещевого энцефалита, Ростовскую область — природным очагом лептоспироза, или весь Дальний Восток — природным очагом листериоза. Подобными формулировками, к сожалению, продолжает пестрить научная литература последних лет. Странно звучит, например, утверждение, что «...очаговые по Крымской–Конго геморрагической лихорадке участки на территории 7 административных субъектов ЮФО представляют собой единый природный очаг...» (Онищенко, Ефременко, 2004). Многие специалисты противочумной службы называют природным очагом огромную территорию со сходным основным носителем. Например: Прикаспийский Северо-Западный степной очаг суслиного типа или Прикаспийский песчаный очаг песчаночьевого типа (Онищенко, Кутырев, 2004). Такой подход, как уже неоднократно отмечено, в том числе и в последнее время (Каримова, Неронов, 2007), нивелирует различия между разными хронологическими задачами: а) выделением автономных очагов, б) типизацией природных очагов, которая может осуществляться по различным руководящим признакам и в) районированием очаговой территории.

Резкие возражения вызывают и некие «революционные» воззрения, автор которых (Болотин, 2002) рассматривает природный очаг как биосоциальную систему. По его мнению, «...эпизоотические процессы, не затрагивающие человека, не создают еще природного очага заболевания», которым он называет «...антропозкосистему определенного иерархического уровня, в которой обеспечивается

существование и проявление возбудителя болезни и реализуется тот или иной уровень заражения людей» (выделение текста — Э.К.). Идея соцэкосистемного уровня в структуре эпидемического процесса сама по себе совсем не нова (Черкасский, 1988). Она приложима к антропонозам и даже к значительному числу зоонозов, которыми человек заражается от домашних животных, но не к природноочаговым зоонозам. И дело как раз именно в том, что определяющий признак природного очага и природноочаговой инфекции, их принципиальное отличие от эпидемического очага антропонозов — независимая от человека циркуляция возбудителя в природе, для которого человек, за редким исключением, является биологическим тупиком (раздел 1.1). Это «сердцевинное» положение теории природной очаговости никогда не вызывало никаких сомнений (Павловский, 1946, 1946а; Елкин, 1958; Коренберг, 1983; Беляков, Яфаев, 1989; Покровский, Черкасский, 1993; Сергиев и др., 2003). Его переоценка с позиции толкования эпидемиологии антропонозов выглядит как попытка дискредитации (вольная или невольная) основ теории Е. Н. Павловского. Другое дело, что интенсифицирующаяся антропогенная деятельность и биосоциальные факторы способны резко изменить структуру и функционирование паразитарных систем, интенсивность и формы контакта человека с природными очагами и даже пути передачи возбудителя человеку, о чем еще будет сказано ниже.

Поскольку экосистемы разных типов (наземные, почвенные и водные) функционально связаны между собой, природные очаги могут быть представлены тем или иным их сочетанием. Даже в случае облигатно-трансмиссивных инфекций (инвазий), которым, в частности, посвящена эта книга, когда возбудитель, казалось бы, обитает в наземной экосистеме, его существование прямо или косвенно связано с почвами (метаморфоз переносчиков; носители и переносчики в норах) или водоемами (выплод переносчиков). При нетрансмиссивных болезнях роль почв и водоемов гораздо существеннее, ибо зачастую они служат звеном циркуляции возбудителя или местом его резервации. Возбудители сапронозов, хотя и являются обычными компонентами почвенных и водных экосистем, регулярно или эпизодически выходят в наземные экосистемы, проявляясь в виде эпизоотий или независимых заражений теплокровных животных. Подобные «выносы» патогенных микроорганизмов могут осуществляться разными путями. При некоторых лептоспирозах (Терских, 1952; Ананьин, 1971) и мелиоидозе (Ковалев, 1976), например, заражение диких грызунов может происходить при контакте с водой или влажной почвой. Согласно гипотезе «теллурической чумы» (Baltazard et al., 1963; Baltazard, 1964), грызуны могут заражаться аспирационным путем при рытье нор, а по современным данным и при взаимодействии с почвенными беспозвоночными (Кутырев и др., 2009). Вполне вероятно заражение зеленоядных грызунов при поедании инфицированных побегов растений, куда возбудители (иерсинии, листерии, микоплазмы) могут проникать через корневую систему из почвы (Литвин и др., 1996). Высшие растения непосредственно связывают почвы с наземными экосистемами, и этот канал выноса возбудителей, при его массовости, разно-

образии и доступности, заслуживает детального изучения. Более того, появились основания ставить вопрос о самостоятельной резервуарной роли растений в природных очагах сапронозов (Литвин и др., 1998; Пушкарева и др., 2012).

Возбудители облигатно-трансмиссивных инфекций отличаются наименьшей экологической пластичностью. Они входят в состав обязательной «триады» с определенными видами носителей и переносчиков, замена которых затруднена или даже невозможна. Выход из данной паразитарной системы, как и из наземной экосистемы вообще, обычно губителен для таких микроорганизмов. Возбудители факультативно-трансмиссивных и, тем более, нетрансмиссивных зоонозов экологически гораздо более пластичны: они частично или полностью утрачивают связи с переносчиками и расширяют спектр возможных сред обитания за счет периодического существования в почвах, водоемах или других объектах внешней среды. Вместе с тем эта группа возбудителей преимущественно обитает в наземных экосистемах. Наиболее высокая экологическая пластичность характерна для возбудителей природноочаговых сапронозов, основной и первичной средой обитания которых служат почвы или водоемы. Их адаптации к данным условиям наиболее совершенны и разносторонни.

Сложные задачи обитания в качественно различных средах эти бактерии, как и другие возбудители болезней (Сопрунов, 1987), решают с помощью специальных генетических систем, реализующих разные стратегии выживания (Литвин и др., 1998). В этой связи особый смысл приобрели высказывания Е. Н. Павловского (1959) о резком изменении условий существования возбудителя при смене сред обитания или хозяев. В числе «горячих» точек проблемы природной очаговости В. В. Кучерук (1982) называл «изменение популяционного состава возбудителей при переходе из одной среды обитания в другую».

При всем многообразии паразитарных систем и непостоянстве их состава (варьирование хозяев) центральным, связующим звеном неизменно остается популяция возбудителя. Паразитарная система трактуется как популяция паразита во взаимодействии со всеми популяциями его хозяев. Паразитарные системы разнообразны по своей структуре — двучленные, трехчленные, многочленные, а также простые и сложные (Беклемишев, 1956). Понятие «паразитарная система» равно применимо к любым болезням человека (включая антропонозы), животных и растений. Паразитарные системы природноочаговых болезней — лишь одна из их категорий. Вместе с тем природный очаг в целом — понятие более широкое, чем паразитарная система, поскольку последняя представляет собой составную часть природного очага как экосистемы (или совокупности экосистем). Регуляция паразитарной системы природного очага осуществляется не только внутренними механизмами, т.е. путем саморегуляции (Балашов, 1972; Коренберг, 1983; Беляков и др., 1987), но и внешними по отношению к ней факторами. Экосистемные механизмы регуляции (хищничество, конкуренция в сообществах, абиотические факторы) прямо или опосредованно воздействуют как на популяцию возбудителя, так и на популяции его хозяев (Литвин и др., 1998). Их интегрированное проявление демонстративно отражает геогра-

фия возбудителей: в конечном счете распространение определенного возбудителя, как и любого биологического вида, зависит от наличия необходимых биотических и абиотических условий, которые складываются под влиянием зональных, интразональных и экстразональных явлений (Коренберг, 1983). Абиотические, в частности температурные, условия оказывают существенное воздействие даже на возбудителей облигатно-трансмиссивных инфекций (Павловский, 1947а). Его масштабы еще в полной мере не оценены. Формирование патогенных свойств вируса клещевого энцефалита, например, как показали Е. И. Болотин и Л. Е. Горковенко (1998), по всей вероятности в значительной степени определяется условиями холодного периода года. Не разделяя упрощенное отношение этих авторов к иксодовым клещам только как к «органическому субстрату» для внутриклеточного паразитизма вируса и основанный на этом вывод, по которому клещевой энцефалит (КЭ) «можно отнести к особой группе условных сапрозоонозов», нельзя не согласиться с тем, что формирование свойств вируса под влиянием холодного периода года заслуживает пристального изучения. Более того, весьма вероятно, что температурный режим неактивного для основных переносчиков периода и показатели континентальности климата — это важнейшие факторы продемонстрированной клинальной изменчивости и эволюции вирусов группы КЭ (Zanotto et al., 1995; Gould et al., 1997).

Популяция возбудителя в природном очаге неоднородна и дискретна (Беклемишев, 1959б). В любой момент времени отдельные части популяции параллельно населяют разные среды обитания. В общем случае можно различать три такие части: гостальную (совокупность возбудителей в организмах теплокровных), векторную (то же, в организмах членистоногих переносчиков) и «внеорганизменную», обитающую вне данной паразитарной системы — в почвах, водоемах, растениях и т.п. (Литвин, 1983а). Соответственно, популяции возбудителя в очагах тех или иных болезней представлены разными частями, и роль каждой из них для сохранения возбудителя в различных условиях, в разные сезоны и годы может варьироваться. Каждая из этих частей популяции возбудителя, в свою очередь, генотипически и фенотипически гетерогенна по ряду признаков, в том числе по вирулентности (Korenberg, 1989). Эти явления связаны с клонально-селекционными процессами в популяции возбудителя, обеспечивающими преобладание тех или иных клонов и клональную структуру его популяции в целом, адекватную конкретным условиям (Беляков и др., 1987). С этих позиций виды возбудителей можно рассматривать как совокупность многих клональных линий, каждой из которых свойственна относительная изоляция генофонда, характерная для популяции микроорганизма (Кравцов, Ряпис, 1991). Это позволяет ей быстро адаптироваться к совершенно разным условиям внутренней среды естественных резервуарных хозяев и переносчиков, а также к прямому и косвенному воздействию факторов внешней среды и в конечном счете обеспечивает устойчивость природного очага во времени и пространстве.

Система единиц районирования территории, на которой распространены природные очаги той или иной инфекции включает шесть категорий: 1) при-

родный очаг; 2) группа очагов; 3) класс очагов; 4) очаговый регион; 5) группа очаговых регионов; 6) ареал возбудителя (область распространения природных очагов) (Кучерук и др., 1969; Кучерук, 1972; Дубровский, 1976; Коренберг, 1983, 1985). Все эти категории выявляются, например, при анализе ареала КЭ, причем они соответствуют единицам хорологической структуры вида у основных переносчиков вируса — таежного (*Ixodes persulcatus*) и лесного (*I. ricinus*) иксодовых клещей (Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981). Поскольку эти же виды членистоногих — основные переносчики и других возбудителей, экологически связанных в Евразии с иксодовыми клещами, есть основания полагать, что перечисленные категории полностью применимы и для районирования ареала других возбудителей, которые рассмотрены в данной книге.

Природный очаг КЭ может быть островным или занимать часть крупного лесного массива, но иметь четкие рубежи, по которым его можно оконтурить. В этих границах существует популяция переносчика и популяция вируса. *Группа очагов* состоит из нескольких природных очагов (от 2 до 10–12), количество которых зависит от совокупности природных факторов. Площадь, которую может занимать группа очагов, в различных географических районах неодинакова: от нескольких десятков до нескольких сотен или даже тысяч квадратных километров. Для группы очагов характерны сходные условия их существования. Они представляют единый территориальный комплекс, но каждый природный очаг, входящий в группу, функционирует как самостоятельная популяционно-биоценотическая экосистема. Связь между такими очагами не обязательна для их длительного существования, но вполне возможна. Очаги, входящие в группу, могут быть однотипными по уровню численности основного переносчика, по своей структуре и по интенсивности циркуляции вируса (по лоймопотенциалу — см. далее) или различаются по этим признакам. Группа может состоять из однотипных или разнотипных очагов, что позволяет различать типологические варианты групп очагов, но не каждый природный очаг обязательно входит в состав группы очагов, т.е. может быть «островным». *Класс очагов* объединяет до нескольких десятков групп очагов определенных типологических вариантов и все островные очаги, расположенные между этими группами. Он занимает сравнительно обширную площадь, соизмеримую по величине с отрезком подзоны или зонального типа (подтипа) растительности. *Очаговый регион* представляет собой определенное сочетание присущих ему нескольких классов очагов. Его площадь доходит до сотен тысяч квадратных километров и обычно хорошо ограничена существенными географическими рубежами (крупными реками, горными хребтами и т.п.). *Группа очаговых регионов* объединяет определенное число очаговых регионов и представляет собой крупный сектор ареала возбудителя, площадь которого может исчисляться многими миллионами квадратных километров и характеризуется общностью важнейших климато-географических показателей. *Ареал* КЭ, например, включает 7 групп очаговых регионов (Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981).

Ареалы возбудителей различных природноочаговых зоонозов не обязательно должны включать всю иерархию перечисленных структурных элементов. В зависимости от величины этих ареалов, их общей зональной приуроченности, от особенностей паразитарных систем и других причин одни категории районирования могут быть выражены более четко, а другие вовсе отсутствовать. Однако во всех случаях главная единица районирования — природный очаг. Подобно тому, как популяция представляет собой элементарную единицу биохорологической структуры вида, природный очаг — это элементарная единица структуры ареала природноочагового зооноза. В пределах ареала возбудителя имеется множество отдельных природных очагов. В пределах области распространения вируса КЭ, например, по всей видимости насчитывается несколько десятков тысяч природных очагов (Коренберг, 1979).

Любой природный очаг имеет определенную пространственную структуру. По предложению В. В. Кучерука (1972) под пространственной структурой природного очага понимают наличие на его территории участков различной эпизоотической значимости и их закономерное сочетание. Такие участки выявлены в природных очагах различных инфекций, причем внутри очага, если он занимает большую площадь, удается выделить структурные элементы по крайней мере трех рангов: образующие мелкую, среднюю и крупную структуры. Для планирования разведки природных очагов и степени эпидемической опасности его частей особое значение имеют представления о составных частях так называемой средней структуры, причем различают функционально различные структурные единицы: участки относительно стойкого сохранения возбудителя или ядра очага, участки выноса инфекции и участки, всегда или почти всегда свободные от возбудителя. Ни одна из этих единиц в отдельности не может обеспечить длительное существование возбудителя. Структура природных очагов различных инфекций при разной интенсивности эпизоотического процесса выглядит не одинаково. Ее элементы могут быть выражены лучше или хуже, но, как правило, при многолетнем наблюдении за очагом они всегда выявляются (Кучерук, 1972, 1982; Коренберг, 1979а, 1983).

К сожалению, складывавшиеся десятилетиями научные представления о том, что такое природный очаг и каковы общие закономерности его функционирования, совершенно не принимаются во внимание авторами некоторых официальных документов. В результате появляются совершенно необоснованные, и даже нелепые дефиниции этого важнейшего понятия (например, в санитарно-эпидемиологических правилах СП 3.1.3.2352–08 «Профилактика клещевого энцефалита»).

Между тем, природный очаг — это, как правило, открытая саморегулирующаяся по принципу отрицательной обратной связи биоценотическая паразитарная система (Балашов, 1972; Лавровский, Попов, 1978). В некоторых случаях в функциональном отношении они могут быть замкнутыми или полужамкнутыми (Litvin, 1982; Литвин, 1983б). Основной механизм саморегуляции природноочаго-

вых паразитарных систем — динамика взаимоотношений внутривидовой гетерогенности ее главных компонентов: возбудителя, его резервуарных хозяев и переносчиков. Генетически детерминирована норма реакции прокариотических и эукариотических организмов на различные факторы среды. В целом на популяционном уровне сохраняется определенное соотношение генотипов и фенотипов, но в череде поколений (генераций) эти соотношения могут изменяться под влиянием различных абиотических и биотических факторов (Шмальгаузен, 1968; Северцов, 2008). Важнейшее условие поддержания жизнеспособности популяции любого вида в непрерывно изменяющихся условиях среды — ее чрезвычайно высокая генетическая разнородность (Четвериков, 1926; Шмальгаузен 1961, 1968; Тимофеев-Ресовский и др., 1969, 1973; Медников, 1975 и др.). «Неоднородность популяции, — как выразился С. С. Шварц (1980, С. 170), — биологический закон, не знающий исключений. Ему подчиняются любые признаки любых организмов». По ряду причин, которые рассмотрены во многих монографиях, в популяциях происходит непрерывное изменение частот генов. Проявления этих генетико-автоматических процессов в пространстве называют принципом Майра, а во времени — принципом Райта.

Возбудителям болезней (вирусам, риккетсиям, бактериям, простейшим) свойственна широкая естественная изменчивость. Это показано в десятках специальных публикаций и во многих монографиях. Для анализа закономерностей эпизоотического процесса принципиальное значение имеет варибельность двух групп признаков: а) степени вирулентности возбудителя по отношению к основному носителю (или носителям); б) способности возбудителя сохраняться в организме специфического переносчика, размножаться в нем, передаваться по ходу его метаморфоза, а также реципиенту. Эти признаки генетически детерминированы, но их фенотипическое проявление в разных условиях варьирует в пределах определенной нормы реакции (диапазона). Тот или иной фактор внешней среды, а для возбудителя, как подчеркивал Е. Н. Павловский (1934, 1947), организм переносчика является внешней средой, может стать индуктором, способствуя экспрессии одного гена (группы генов) и (или), блокируя другой (другую группу), что резко меняет фенотипическое проявление признака (Медников, 1975; Рокицкий, 1978 и др.). Это универсальное положение общей генетики приложимо ко всем компонентам паразитарной системы. Но его особенно важно иметь в виду при оценке свойств прокариотических возбудителей, которым свойственна клоная изменчивость, и любой из имеющихся клонов (или мутаций) моментально может получить преимущество.

Долгие годы полагали, что восприимчивость, инфекционная чувствительность и особенности патогенеза инфекции, свойственные носителям, — это стойкие видовые признаки, не подвергающиеся существенным изменениям (Олсуфьев и Дунаева, 1960, 1970). По представлениям, основанным на теоретических постулатах популяционной экологии и популяционной генетики (Эфроимсон, 1971; Румянцев, 1977), которые многократно подтверждены разнообразными

полевыми и экспериментальными данными, внутривидовая и внутрипопуляционная разнокачественность носителей по степени восприимчивости и чувствительности к инфекции — это закономерное и широко распространенное явление. По мнению В. П. Эфроимсона (1971), естественный отбор, сохраняя и распространяя различные мутации, создает внутривидовую наследственную гетерогенность популяции такого уровня, при котором каждая особь оказывается биохимически и антигенно неповторимо индивидуальной. Этот динамичный наследственный полиморфизм популяции носителя — одно из его основных приспособлений по отношению к возбудителям. По этому признаку можно судить о внутрипопуляционном распределении особей резервуарных хозяев по степени их восприимчивости (или резистентности) к тому или иному возбудителю.

Факты, известные уже к началу 80-х годов прошлого столетия, дали основание предполагать, что в популяциях переносчиков, и в частности иксодовых клещей, в гетерозиготах могут быть рецессивные аллели генов, в той или иной мере контролируемые различные признаки, комплекс которых определяет их эффективность как переносчиков. Весьма вероятно, что у разных переносчиков степень внутривидовой и внутрипопуляционной разнокачественности в отношении их способности воспринимать, хранить и передавать различные возбудители существенно различается (Коренберг, 1981). Размах и динамика этих явлений, а также их истинное значение для эпизоотологии облигатно-трансмиссивных инфекций, включая экологически связанные с иксодовыми клещами, остаются малоизученными.

Понятие «эпизоотический процесс», по мнению В. М. Жданова (1964), — это, прежде всего, понятие экологическое. По В. Н. Беклемишеву (1956, С. 1767), это «процесс взаимодействия популяций — сочленов паразитарной системы, в той или иной мере обуславливающий изменения их численности, биологического состава и физиологического состояния».

Функционирование природных очагов, как уже говорилось (раздел 1.1), изначально связывали с непрерывной циркуляцией возбудителя как единственно возможной формой его существования в природе, а само это явление долгое время отождествлялось с понятием эпизоотический процесс. В наиболее концентрированной форме этот взгляд отразился в формулировке: «нет непрерывной передачи возбудителя — нет и не может быть эпизоотического процесса» (Бакулов, Третьяков, 1979, С. 5). Со временем накапливались данные о перерывах в активной циркуляции возбудителей в очагах и сформировались представления о внутригодичных (сезонных) и многолетних (продолжающихся иногда десятилетиями) межэпизоотических периодах. Стало ясно, что любая цепь циркуляции возбудителя (эпизоотическая цепь) неизбежно ограничена во времени и пространстве, т.е. в принципе конечна, а сама циркуляция возбудителя — это лишь определенная фаза эпизоотического цикла. Следовательно, эпизоотический процесс — это процесс непрерывного взаимодействия популяции возбудителя с популяциями его естественных хозяев и внешней средой, обеспечивающий существование возбудителя (Коренберг, Ковалевский, 1977; Korenberg, 1982, 1989; Коренберг,

1983), складывающийся из последовательных эпизоотических циклов, каждый из которых включает фазу резервации и фазу эпизоотического распространения (циркуляции) возбудителя (Литвин, Коренберг, 1999). Аналогичная фазность характерна и для эпидемического процесса (Беляков, 1983; Беляков, Яфаев, 1989). Поэтому термины «emerging» и «re-emerging» infectious diseases, ставшие популярными в последние десятилетия, по отношению к природноочаговым инфекциям по сути дела лишены эпидемиологического смысла и мало применимы (раздел 1.4). Эти общие представления не исключают специфику эпизоотического процесса, характерную для той или иной природноочаговой инфекции. У возбудителей облигатно-трансмиссивных инфекций, передающихся иксодовыми клещами (КЭ, риккетсиозы, боррелиозы), закономерные сезонные чередования периодов циркуляции и резервации отчетливо выражены и общеизвестны.

Механизмы резервации возбудителей в природных очагах достаточно разнообразны. Хорошо известны трудности обнаружения возбудителей в межэпизоотические периоды бактериологическими (вирусологическими) методами. Некоторые бактерии способны длительно персистировать в организме носителей или переносчиков в L-форме. Доказано, что многие неспорообразующие бактерии, в том числе возбудители природноочаговых инфекций (легионеллы, листерии, иерсинии, вибрионы и др.) при неблагоприятных условиях переходят в покоящееся (некультивируемое) состояние, прекращая размножение и резко снижая метаболизм. Это один из возможных способов длительной резервации возбудителей в природных очагах, функционально подобный образованию спор у клостридий или бацилл (Романова, Гинцбург, 1993). Такие покоящиеся формы обнаружены и в естественных почвах и водоемах — в очагах чумы, псевдотуберкулеза, холеры. При изменении условий происходит реверсия покоящихся форм бактерий в вегетативные (бактериологически выявляемые) формы, характерные для периодов активной циркуляции возбудителей (Литвин и др., 1998). Существуют и иные способы резервации возбудителей в межэпизоотические периоды (сезоны): персистенция в организме теплокровных хозяев (Калабухов, 1972; Олсуфьев и др., 1984), сохранение в клещах при их длительном голодании (Павловский, 1947а), а также, возможно, сохранение в цистах простейших в зимние сезоны (Никульшин и др., 1992).

В ходе эпизоотического процесса возбудители ряда инфекций воздействуют на носителей как мощный фактор отбора (Эндрюс, 1969; Дятлов, 1972; Эфроимсон, 1971). Носители и переносчики, в свою очередь, осуществляют селективную функцию в отношении возбудителей (Эндрюс, 1969; Балашов, 1972; Бибикова, Классовский, 1974; Чунихин и др., 1979). С этими процессами связаны два взаимосвязанных, но не тождественных аспекта проблемы: а) сущность динамики эпизоотического процесса в связи с гетерогенностью популяций возбудителя, резервуарных хозяев и переносчиков; б) процесс длительной сопряженной коэволюции паразито-хозяйинных отношений, результат которых — современный облик той или иной инфекции (или инвазии) и ее возбудителя как биологическо-

го вида. В первом случае — это вопрос межпопуляционных паразито-хозяйинных отношений и их трактовки с позиций популяционной экологии и популяционной генетики. Во втором — это вопрос познания микроэволюции и эволюционного процесса в целом, который, как известно, в большинстве случаев направлен на достижение определенного равновесия между паразитом и хозяином (Эндрюс, 1967; Балашов, 1972; Петрищева, 1972а; Кеннеди, 1978; Риклефс, 1979).

Поэтому довольно давно стало понятно, что прогресс в изучении феномена природной очаговости может быть достигнут при сочетании традиционных популяционно-экологических подходов с принципами и методами популяционной генетики (Львов, 1975; Беляков, 1976; Коренберг, 1979, 1981, 1983, 1985; Korenberg, 1989). Более того, исходя из теоретических популяционно-генетических представлений, В. Д. Беляков (1979) сформулировал и развил концепцию саморегуляции эпидемического процесса, которая, по его признанию, представляет собой дальнейшее развитие теории Е. Н. Павловского. Однако методические возможности для реализации такого подхода в те годы были ограничены и в большинстве случаев сводились к выявлению и характеристике разнообразия фенотипических признаков.

Как известно, главный объект эпидемиологии — эпидемический процесс. В. Н. Беклемишев (1961, С. 387) назвал эпидемический процесс «процессом взаимодействия между человеческим коллективом и популяцией возбудителя». Специфика эпидемиологии природноочаговых инфекций определяется общими экологическими особенностями их возбудителей, которые существуют в естественных экосистемах и циркулируют в популяциях диких животных. Человек, как уже отмечено, не только не имеет никакого значения для них как хозяин, но и в большинстве случаев является биологическим тупиком, т.к. передача возбудителя от человека к человеку обычно невозможна. Вне природной обстановки, за некоторыми эпидемиологически важными исключениями (см. далее), отсутствуют факторы, обеспечивающие механизм передачи возбудителя. Таким образом, в «классическом варианте» нет цепочки последовательных заражений людей друг от друга, характерной для антропонозов. Возбудители некоторых инфекций и инвазий (чума, ряд комариных энцефалитов, зоонозный кожный лейшманиоз и др.) при определенных условиях могут передаваться от человека к человеку. Но цепочка заражений в таких случаях всегда постепенно прекращается, а эпидемическая вспышка без дополнительного притока возбудителя из природных очагов сравнительно быстро самоликвидируется. Иными словами, популяция возбудителя не может существовать за счет людей (человеческой популяции). Заражения случаются, когда люди по тем или иным причинам (производственным, хозяйственно-бытовым, прогулки, туризм и т.д.) соприкасаются с природным очагом и «контактируют» с популяцией возбудителя. При этом инфицирование происходит либо от одного источника, либо каждый заболевший заражается от другого источника инфекции, не связанного с остальными больными. Та-

ким образом, эпидемия при природноочаговых болезнях — «это сумма разрозненных заболеваний, независимо возникающих в разных местах, часто на значительном удалении друг от друга» (Кучерук, 1976). Заражение может происходить и непосредственно в населенном пункте, чаще всего от позвоночных — носителей или членистоногих — переносчиков, проникших на его территорию. Эпидемические осложнения по геморрагическим лихорадкам с почечным синдромом, например классическим природноочаговым зоонозам, связаны главным образом с заносом возбудителей их резервуарными хозяевами, мигрирующими в населенные пункты, и благоприятными условиями для размножения вируса, которые здесь создаются при высокой численности мышевидных грызунов (Tkachenko et al., 1999).

Распространение определенного возбудителя (т.е. природных очагов той или иной инфекции), как и любого другого биологического вида, зависит от наличия необходимых для его существования абиотических и биотических условий. Природным очагам свойственна определенная для каждого возбудителя сезонность эпидемического проявления. Особенно четко опасный для людей период ограничен у инфекций и инвазий, заражение которыми происходит при укусе членистоногих переносчиков, т.е. трансмиссивным путем, поскольку эпидемический сезон определяется периодом активности специфического переносчика, нападающего на человека в определенной фазе развития.

Риск заражения людей и, соответственно, масштаб эпидемического проявления природного очага представляют собой результат взаимодействия двух показателей: интенсивности циркуляции возбудителя в данном природном очаге (т.е. его лоймопотенциала) и интенсивности контакта населения с природным очагом. Другие природные (биотические и абиотические) и социально-демографические факторы прямо или опосредованно непрерывно оказывают воздействие на величину этих двух взаимодействующих показателей. В этой связи особую важность имеет понятие «лоймопотенциал» (Коренберг, 2010а). Его предложил Ш. Д. Мошковский (1950) и следующим образом объяснил суть этой величины (С. 123): «В большой степени понятие лоймопотенциал аналогично понятию напряженности или силы поля. Сила электрического поля в данной точке определяется путем внесения в эту точку пробного заряда. Таким «пробным зарядом» для лоймопотенциала является свежее, т.е. не болевшее данной инфекцией и в принципе восприимчивое лицо. Лоймопотенциал измеряет вероятность заражения такого лица в данной точке».

Широкая общеэпидемиологическая дефиниция этого понятия звучит следующим образом: «Лоймопотенциал, или потенциал инфекции — интенсивность передачи инфекции в данном очаге в данный момент, определяющая долю лиц в населении, в организм которых проникает (или мог бы проникнуть — в случае попадания людских контингентов в природный очаг) возбудитель в форме и дозе, достаточной для эффективного заражения восприимчивого человека» (Мошковский, 1961, С. 131).

На рис. 1.2 представлена универсальная блок-модель взаимодействия факторов, определяющих степень эпидемического проявления природных очагов, пригодная как для анализа причин, вызвавших многолетние изменения показателей заболеваемости, так и для их прогнозирования. Она показывает, что прямой линейной связи между каким-то одним из этих факторов и уровнем заболеваемости, как правило, быть не может. Вывод об отсутствии такой связи уже давно не выглядит новым и важным, как это до сих пор представляют некоторые исследователи, например Е. И. Болотин и Е. Г. Бурухина (2009). Представляется очевидным, что любой эпидемиологически грамотный анализ таких факторов должен основываться не только на многолетних данных, характеризующих изменение состояния абиотических (климатических, влияние солнечной активности и др.) и биотических показателей, но и на строго обоснованных количественных показателях динамики интенсивности контактов населения с природными очагами. В противных случаях никакие корреляционные, корреляционно-регрессивные, логико-вероятностные и иные математико-статистические приемы и модели не спасают исследователей (Коротков, 2005, 2007; Лбов и др., 2011; Бериков и др., 2012; Любезнов, Бондаренко, 2012 и др.) от одностороннего анализа влияния климатических и других природных факторов на показатели заболеваемости. Такой односторонний анализ неизбежно делает их заключения и выводы необъективно-умозрительными и, следовательно, мало достоверными. Сегодня об этом со всей очевидностью свидетельствуют неоправдавшиеся долгосрочные прогнозы заболеваемости КЭ, которые казались убедительными 25–30 лет назад (Наумов, 1983; Наумов, Гутова, 1987).



Рис. 1.2. Блок-модель эпидемического проявления природных очагов болезней человека (по Коренбергу и Юрковой, 1983).

Первичная эпидемическая опасность природных очагов болезней человека связана, как говорилось выше, с пребыванием людей на очаговых территориях. Она может резко измениться при тех или иных формах хозяйственной деятельности (Павловский, 1946, 1960; Черкасский, 1981; Коренберг, Юркова, 1983). Лоймопотенциал антропоургических очагов, т.е. природных очагов в преобразованной человеком среде, при ряде болезней весьма значителен (Rosicky, Daniel, 1989), особенно в агроценозах с животноводческими комплексами. В современных условиях растущую и не в полной мере оцененную опасность представляет формирование вторичных очагов в урбоценозах (Ковалева и др., 1982), которые так или иначе «черпают» возбудителей из первичных, природных очагов. Вероятно, отнюдь не случаен общий спектр условно-патогенных бактерий в медицинских стационарах (Яфаев, Зуева, 1989) и в естественных экосистемах (Шустрова, Дубровский, 1991). Эпидемически опасными становятся многие вчерашние сапрофиты, убиквитарно распространенные в природе, или известные фитопатогены.

Осложнения эпидемической ситуации, связанные с массовым размножением возбудителей в благоприятных, а нередко даже оптимальных для них условиях, созданных деятельностью (или бездеятельностью) человека, характерны для легионеллеза (Тартаковский, 2001; Онищенко, 2008), псевдотуберкулеза (Сомов и др., 2001), листериоза (Тартаковский и др., 2002), других сапронозов, причем могут существенно изменяться факторы и пути передачи возбудителя. Но даже при этом контагиозность, свойственная антропонозам, как правило, не возникает и имеет место лишь в редких и весьма специфических ситуациях. Это означает, что сапронозным инфекциям свойственны главные черты эпидемического процесса природноочаговых инфекций.

Очаги инфекций, созданные человеком в урбоценозах, — результат стойкого укоренения возбудителей в объектах непосредственного окружения человека, различных системах его жизнеобеспечения — водоснабжения и кондиционирования, хранения продуктов и общественного питания, медицинского обслуживания и др. Эпидемиологическое своеобразие таких «рукотворных» очагов весьма значительно. Это позволяет говорить о самостоятельной проблеме техногенной очаговости инфекций (Литвин и др., 1998), которая созвучна идее о паразитарном загрязнении в урбанизированных экосистемах (Сонин и др., 1997). Многие актуальные эпидемиологические проблемы — такие как пищевые инфекции и интоксикации, внутрибольничные и «оппортунистические» инфекции (инвазии), системные микозы и легионеллез — имеют несомненную причинную связь с природной очаговостью болезней. Их число будет расти в ходе урбанической цивилизации и по мере расширения наших знаний (Литвин, Коренберг, 1999).

В паразитарных системах, образованных возбудителями природноочаговых инфекций, и особенно облигатно-трансмиссивных (поскольку организм одной особи зараженного переносчика содержит более или менее разнообразную совокупность его клонов), закономерности популяционной генетики возбудителей могут (должны) проявляться в «чистом виде». При этом любое изменение

клональной структуры, имеющее (или потенциально имеющее) эволюционное значение, происходит на уровне популяции возбудителя в целом (статистически значимого числа микропопуляций). Кроме того, клиническая картина заболевания, включая возможность инapparантного течения и хронизации инфекционного процесса, — не только, или даже не столько результат заражения человека возбудителем (штаммом, клоном) определенной генетической структуры. Это результат взаимодействия возбудителя и макроорганизма. Суть популяционно-генетических закономерностей этого взаимодействия в том, что, хотя геном особи не способен защитить от всех возбудителей, в любой эукариотической популяции присутствует определенная доля организмов, способных противостоять практически любому патогену (Пальцев и др., 2009). В этой связи уместно еще раз подчеркнуть, что природноочаговые паразитарные системы представляют собой прекрасную естественную модель для изучения ряда фундаментальных биоэкологических закономерностей, определяющих, в частности, и существование возбудителей антропонозов, прямое изучение которых на людях затруднено или даже невозможно (Коренберг, 1979, 1986; Korenberg, 1989; Литвин, Коренберг, 1999).

Широкий круг объектов и биоэкологических проблем, охватываемых концепцией природной очаговости болезней, свидетельствует о том, что она представляет собой одно из направлений симбиотологии.

1.3. Происхождение патогенности микроорганизмов для человека

По общепринятым представлениям, патогенность микроорганизма (инфекциозность вируса) — это генотипический полидетерминантный признак, характеризующий его потенциальную видовую способность вызывать инфекционный процесс, а вирулентность и токсигенность — фенотипическое выражение патогенного генотипа. Содержание понятия «патогенность» шире и обобщеннее, чем понятия «паразитизм» (Тимаков и др., 1983), поскольку патогенные свойства могут проявлять не только паразиты, но и иные организмы — от мутуалистов до сапрофитов.

Тем не менее распространена точка зрения, согласно которой патогенность микроорганизмов отражает их достаточно длительные коэволюционные взаимоотношения с хозяевами, в процессе которых переход микроорганизмов-сапрофитов к паразитизму был вызван мутациями и отбором, происходившими под влиянием организма хозяина. В результате микробы утратили способность образовывать ненужные при паразитизме ферменты, но приобрели способность синтезировать токсины и биополимеры, наделившие их патогенными свойствами (Петровская, 1967; Тимаков и др., 1983). Вирулентность предложено рассматривать как функцию адаптации микроба к организму хозяина (Доморадский, 1997). Крайний вариант этих взглядов, давно подвергнутый справедливой критике (Болл, 1944), приводит к бытующим по сей день выводам, что высокая патогенность паразита свидетельствует о недавних, еще не вполне установившихся и несовершенных паразито-хозяинных отношениях, а слабая патогенность,

наоборот, — результат длительной коадаптации. По этой логике, степная пеструшка (*Lagurus lagurus*), например, которую используют в качестве модели для инфектологических экспериментов, высоко восприимчива к некоторым не распространенным в открытых ландшафтах возбудителям потому, что никогда не сталкивалась с ними. Но в аналогичной ситуации эти свойства не проявляют многие другие животные.

Если говорить о заразных болезнях человека, такая позиция в какой-то мере имеет под собой чисто логические основания, когда речь идет о возбудителях эволюционно сложившихся антропонозов. Однако для большинства возбудителей природноочаговых зоонозов человек, как известно, — случайный хозяин и «биологический тупик». Это означает, что взаимодействие возбудителя (паразита) и человека как его случайного хозяина не может иметь никаких коэволюционных последствий, и ни один из описанных исходов такого взаимодействия (Smith, Morrow, 1991) в случаях природноочаговых инфекций просто не может реализоваться. Уже само существование эволюционно не связанных с человеком возбудителей его заболеваний не согласуется с описанными выше представлениями (Коренберг, 1986). «Микроорганизмы, — как отметили Сергиев и Филатов (2006, С. 10), — появились не для того, чтобы вызывать болезни, а для своего собственного существования». Сколько-нибудь длительная коэволюция возбудителей природноочаговых зоонозов и человека, в ходе которой якобы происходила адаптация сапрофитов или паразитов диких животных к организму хозяина (Жданов, 1964), в подавляющем большинстве случаев была просто невозможна, причем это относится ко всем группам микроорганизмов — от вирусов до простейших и гельминтов. Тем не менее одни микроорганизмы, существующие в естественных экосистемах независимо от человека, патогенны для него и относятся к числу возбудителей природноочаговых инфекций, а другие представители того же рода не вызывают заболеваний.

Представления о происхождении вирусных и бактериальных возбудителей болезней человека от симбионтных форм (Эндрюс, 1969; Тимаков и др., 1983) в самой общей форме обычно не вызывают сомнений. Однако поскольку для возбудителей природноочаговых инфекций генетически детерминированный признак патогенности не имеет жизненно необходимого эволюционного значения, возникает вопрос, каков его биологический смысл и механизмы возникновения.

На протяжении длительного времени в исследованиях паразитарных систем по понятным причинам основное внимание уделялось микроорганизмам, которые вызывают заболевания человека. В значительной мере на эту задачу были ориентированы методы их первичной изоляции, идентификации и последующего изучения. Широкое применение современных молекулярно-биологических методов привело в последнее десятилетие к лавинообразному накоплению принципиально важных данных о разнообразии микроорганизмов. Только в течение одного года в «Международном журнале систематики и эволюционной микробиологии» (*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*), например, на эту тему было опубликовано более 650 дополнений и коррективов (Euzéby, 2003). Они свидетельствуют о том, что патогенные для человека вирусы, риккетсии, бактерии,

простейшие — это лишь часть, причем не всегда большая, существующих в природе микроорганизмов той таксономической группы, к которой они принадлежат. Более подробно эти сведения рассмотрены ранее (Коренберг, 2005). Современные данные о соотношении патогенных и непатогенных микроорганизмов по основным этиологическим группам, к которым относятся возбудители природноочаговых зоонозов, сведены в таблице 1.1. Приведенные в ней цифры не претендуют на абсолютную достоверность, поскольку непрерывно происходят уточнения таксономического статуса уже известных микроорганизмов, описания новых, и общая картина быстро изменяется. Тем не менее ясно, что все основные этиологические группы возбудителей природноочаговых зоонозов имеют близкородственные им свободноживущие сапрофитические формы или симбионтов, связанных с членистоногими и (или) позвоночными животными, которые непатогенны для человека.

Таблица 1.1. Соотношение патогенных для человека и непатогенных форм в различных группах микроорганизмов по литературным сведениям и данным GenBank (из Коренберг, 2006 с добавлением)

Группы микроорганизмов	Примерное число известных форм	Примерное число патогенных форм	Наиболее известное заболевание	Примечания
Лиссавирусы (род <i>Lissavirus</i>)	6–7 генотипов	Почти все	Бешенство	Имеют широкий спектр патогенности и вызывают различные клинические проявления
Хантавирусы (семейство <i>Hantavirus</i>) — мышинные и полевоочьи — хомячьи	Около 15 серотипов/ генотипов Более 20 серотипов/ генотип	5 11	Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом Хантавирусный пульмонарный синдром	
Флавивирусы (семейство <i>Flaviviridae</i>) — клещевые — комариные	Около 20 вирусов Около 30 вирусов	8–9 20	Клещевой энцефалит Японский энцефалит	
Найровирусы (род <i>Nairovirus</i>)	Около 35 вирусов	Несколько	Геморрагическая лихорадка Крым-Конго	
Риккетсии (порядок <i>Rickettsiales</i>) — группы клещевой пятнистой лихорадки — эрлихии, анаплазмы и близкие к ним роды (роды <i>Ehrlichia</i> , <i>Anaplasma</i> и др.)	Около 120 форм Более 25 форм	Около 25–30 Несколько	Клещевой риккетсиоз Моноцитарный эрлихиоз; гранулоцитарный анаплазмоз	Имеют широкий спектр патогенности от классических возбудителей до внутриклеточных симбионтов Патогенность для человека еще некоторых форм возможна, но пока не доказана

Таблица 1.1. Окончание

Группы микроорганизмов	Примерное число известных форм	Примерное число патогенных форм	Наиболее известное заболевание	Примечания
Бартонеллы (род <i>Bartonella</i>)	20 видов	7	Болезнь «кошачьей царапины»	
Лептоспиры (род <i>Leptospira</i>)	7 геномовидов	5	Лептоспироз	Номенвид <i>L. interrogans</i> включает более 230 сероваров, немногие из которых вызывают заболевания
Боррелии (род <i>Borrelia</i>)				
— связанные с аргасовыми клещами	12 форм	10	Аргасовый клещевой боррелиоз	
— связанные с иксодовыми клещами	13—15 геновидов	5	Иксодовый клещевой боррелиоз	
Легионеллы (род <i>Legionella</i>)	42 вида	4—5	Болезнь легионеров	
Иерсинии (род <i>Yersinia</i>)	Более 10 видов	4—5	Чума	
Франциселлы (род <i>Francisella</i>)	6 видов	1	Туляремия	
Бабезии (род <i>Babesia</i>)	Около 100 видов	2	Бабезиоз	Привлечение молекулярно-биологических методов очевидно приведет к объединению ряда современных видов
Лейшмании (род <i>Leishmania</i>)	Около 15 видов	6	Кожный лейшманиоз	

Чрезвычайно сложно судить о филогении и времени происхождения возбудителей природноочаговых зоонозов (Жданов, 1964). Вирусы, экологически связанные с клещами, например, по мнению некоторых исследователей произошли от комариных флавивирусов не более 5000 лет назад (Zanotto et al., 1995, 1996, 1996a; Gould et al., 2001). В другой публикации одного из этих авторов (Gould et al., 2004) высказано мнение, что флавивирусы клещевого энцефалита, видимо, постепенно произошли от неэнцефалитных вирусов, которые в течение последних двух–четырёх тысяч лет распространились из Африки на восток и северо-восток в Азию и ее южные острова, затем к северу, на Дальний Восток и, наконец, оттуда на запад по всей Евразии в Западную Европу. Эти соображения, а также попытки других исследователей обосновать время дивергенции видов, генотипов и иных внутривидовых и надвидовых категорий патогенов преимущественно основаны на результатах метода так называемых молекулярных часов. Он зиждется на предельно простом постулате, согласно которому это время можно посчитать, исходя из единственного критерия: числа синонимических замен в геноме в год. Име-

ется изрядное количество таких работ, и назрела необходимость в их отдельном обстоятельном критическом анализе, который выходит за рамки данной книги. Уместно лишь отметить, что такой формальный генетико-арифметический подход, который называют «молекулярной эволюцией» (Локтев и др. 2007; Локтев, 2011; Субботина, Локтев, 2012), как нам представляется, не может быть продуктивным и самодостаточным. Он полностью игнорирует ряд фундаментальных общебиологических закономерностей, включая неравномерность эволюционного процесса, многообразие его связей с глобальными, а также региональными палеогеографическими, палеоклиматическими и палеонтологическими событиями. Более того, если говорить об облигатно трансмиссивных микроорганизмах, довольно жестко связанных со своими специфическими переносчиками и образующих с ними экологическую систему (например, об арбовирусах и, в частности, о вирусе КЭ и его генотипах), проблема времени и места их происхождения вряд ли в принципе поддается решению таким путем, поскольку компоненты этой системы коэволюционно тесно связаны не только между собой, но и с их позвоночными-хозяевами (Rodhain, Hannoun, 1979).

Например, связь рода *Borrelia* с клещами не вызывает сомнений и представляется бесспорной. Внутри этого рода имеются две четко выраженные группы видов (см. раздел 3.2.1): одна из них экологически связана с аргасовыми клещами (АК-боррелии), другая — с иксодовыми клещами. На первый взгляд, очень простой и привлекательной выглядит идея происхождения боррелий группы ИКБ от спирохет, связанных с аргасовыми клещами, более древними, чем иксодовые клещи. Кажется вполне вероятным, что это могло произойти в условиях симпатрии данных членистоногих, тем более, что на юго-востоке Китая и на юго-западе США и сегодня совместно существуют боррелиозные очаги, связанные с аргасовыми и иксодовыми клещами (Chen et al., 1989; Lane et al., 1991 и др). На основании сходства определенных фрагментов генома некоторых боррелий АКБ и ИКБ групп высказано по существу ничего не проясняющее предположение, что они произошли от общей предковой формы в результате адаптации к различным членистоногим и позвоночным (Carter et al., 1994; Margolis et al., 1994). Предположения основаны только на микробиологических данных и не учитывают ни существенного временного разрыва в появлении аргасовых и иксодовых клещей, ни принципиальных различий во взаимоотношениях АК- и ИК- боррелий с их специфическими переносчиками. Между тем, эти отличия имеют, на наш взгляд, не только, важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение, но и большой эволюционный смысл. АК-боррелии не размножаются в кишечнике клеща, в организме которого происходит генерализация этого процесса, обеспечивающая высокий уровень горизонтальной и вертикальной передачи этих спирохет. Для ИК-боррелий кишечник клеща — нормальная среда их обитания. Они здесь постоянно живут и размножаются. Гемолимфа, напротив, не является для них средой, в полной мере удовлетворяющей жизненные потребности. Генерализованная инфекция наблюдается значительно реже, чем в системе арга-

совый клещ рода *Ornithodoros*—боррелии группы АКБ. Соответственно значительно реже осуществляется вертикальная и горизонтальная передача спирохет (Korenberg, 1994; Коренберг, 1996).

Итак, само существование боррелий группы ИКБ тесно связано с кишечником их основных переносчиков, которым, если судить по широкому распространению в природе клещей с боррелиями, эти «сожители» не приносят заметного вреда. Спирохеты этой группы сохранили коэволюционно, видимо, исходный и (с позиции развития триады возбудитель–переносчик–резервуарный хозяин) более примитивный тип симбиотических взаимоотношений с членистоногими, который АК-боррелии очень давно утратили или вообще не имели. Это позволяет думать, что связи АК- и ИК-боррелий с клещами возникли самостоятельно и независимо друг от друга, причем становление последних по геохронологическим меркам произошло сравнительно недавно, значительно позднее, чем сложились отношения между боррелиями и клещами рода *Ornithodoros*.

Боррелии группы ИКБ экологически наиболее тесно связаны не с разнообразными представителями семейства *Ixodidae*, не с многочисленным и чрезвычайно широко распространенным родом *Ixodes* и даже не со всеми видами подрода *Ixodes sensu stricto*, а только с ограниченной группой видов, входящих в состав данного подрода. Эта группа не имеет четкого таксономического статуса и общепринятого названия. Ее называют группой *I. persulcatus* (Филиппова, 1969, 1985), евразийским комплексом *I. (I.) ricinus* или комплексом *I. (I.) ricinus/persulcatus* (Hoogstral, 1986; Keirans et al., 1992). Акарологи признают близость происхождения 14–15 видов клещей, входящих в этот комплекс, и его естественный характер. Среди этих видов не только все основные переносчики *B. burgdorferi sensu lato* — возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов (Филиппова, 1990; Филиппова, 1991), но и клещевого энцефалита, а также моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека, что свидетельствует, по меньшей мере, о сходстве их палеогенеза. Пока не ясны факторы, способствовавшие тесной связи боррелий и других упомянутых микроорганизмов с клещами именно этого комплекса. Но каковы бы ни были причины, они определили успех их длительной коэволюции с клещами комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus*. Связи спирохет с видами других родов рассматриваются как более поздние и вторичные по отношению к данному комплексу (Филиппова, 1990; Филиппова, 1991), что, по всей видимости, справедливо и для вирусов комплекса КЭ.

Предковые симбионтные формы боррелий группы АКБ могли отделиться от исходного ствола очень давно, еще на протяжении теплого и влажного климата палеозойской эры, которой датируют появление первых паразитических клещей (Sonenshine, 1991). Прямые предковые формы современных боррелий этой группы несомненно связаны с аргасовыми клещами рода *Ornithodoros*. Его окончательное становление произошло, разумеется, значительно позднее, во всяком случае, не ранее юрского или начала мелового периода, когда появились млекопитающие и птицы, но, скорее, даже еще несколько позже. Сегодняшний облик

и распространение АК-боррелий безусловно связаны с различными норовыми и логовищными млекопитающими аридной зоны, и в частности с грызунами, как это постулировал еще Ш. Николь. Однако вряд ли боррелии первоначально были паразитами мелких грызунов (Nicolle, Anderson, 1927), а роль клещей состояла лишь в том, что они стали переносчиками спирохет. Будучи гораздо более древними симбионтами членистоногих, боррелии, видимо, нашли преадаптивные по отношению к ним условия для размножения в организме млекопитающих, что, в конечном счете, привело к возникновению современных рекуррентных лихорадок. Это, на наш взгляд, произошло не в Средней Азии и на Ближнем Востоке, как полагают некоторые исследователи (Жданов, 1953), а скорее всего в Африке или (и) в Южной и Центральной Америке, фауна которых наиболее богата разнообразными видами рода *Ornithodoros* (Филиппова, 1966). Склонность к обитанию в жилых и хозяйственных постройках, которую проявили некоторые клещи этого рода (например, *O. moubata*, *O. papillipes*), привела к возникновению поселковых очагов АКБ. Они появились после перехода человека к оседлому образу жизни (Жданов, 1953), т.е. по геохронологическим меркам совсем недавно.

Циркуляция *B. coriaciae* связана с клещами *O. coriacius* и оленями или другими крупными млекопитающими (Barbour, Hayes, 1986; Lane, Manweiler, 1988). Результаты секвенирования нескольких локусов рРНК показывают, что этот микроорганизм особенно близок к *B. hermsii* (Clayton, 1995). Происхождение *B. coriaciae* выглядит наиболее существенно как результат дивергенции с предшественниками группы АКБ, которая могла произойти не ранее второй половины палеогена, когда указанные млекопитающие получили распространение. В этой связи отношения *B. theileri* со скотом, лошадьми, другими домашними животными и искодовыми клещами родов *Rhipicephalus* и *Voophylus* возникли, очевидно, вторично, причем совсем недавно.

Не вызывает сомнений, что *B. recurrentis* — дериват боррелий группы АКБ, возникший в связи с их адаптацией к внутренней среде вшей и передачей ими человеку (Nicolle, Anderson, 1927; Беклемишев, 1948; Громашевский, Вайндрах, 1946; Жданов, 1953; Weyer, 1960; Felsenfeld, 1971). Скорее всего, это произошло в Северной Африке всего около 3000 лет назад (Громашевский, Вайндрах, 1946; Жданов, 1953), где и до настоящего времени существуют наиболее благоприятные условия для контакта между клещами рода *Ornithodoros*, человеком и его специфическими вшами. Вшивый (эпидемический) возвратный тиф называют «продуктом цивилизации» (Hensyl, 1994). Это подтверждают результаты недавнего сравнения сиквенсов определенного региона некодирующего внутригенного спейсера изолятов спирохет *Borrelia dutonii*, передающихся клещами комплекса *Ornithodoros moubata*, и изолятов *B. recurrentis*, которые были получены от больных. Оно позволило сделать заключение, что *B. recurrentis* представляет собой не самостоятельный вид, а экотип *B. dutonii* (Cutler et al., 2006, 2010). Таким образом, молекулярно-биологическими методами получены данные о таксономическом ранге давно известной *B. recurrentis* и подтверждена роль вшей в возникновении этого экотипа, а также в передаче возбудителя классического аргасового клещевого боррелиоза (АКБ),

возможность которой теоретически (Громашевский, 1965а) и экспериментально (Фаворова и др., 1965, 1967) была обоснована более 45 лет назад.

B. anserina вместе со своим специфическим переносчиком клещом *Argas persicus* имеет почти всесветное распространение (Филиппова, 1966; Felsenfeld, 1971). По представлениям, которые основаны как на данных классической систематики, так и на результатах, полученных молекулярно-биологическими методами, *Argas* филогенетически наиболее далеко из всех родов аргасовых клещей отстоит от рода *Ornithodoros*, причем он проявляет более тесную связь с иксодовыми клещами, чем аргазиды других родов (Black, Piesman, 1994; Klompen, Oliver, 1993). Есть основания думать, что так называемые птичьи боррелии произошли независимо от всех рассмотренных выше боррелий. Результаты генетического изучения боррелий также привели к заключению, что *B. anserina* представляет собой их самостоятельную филогенетическую ветвь (Clayton et al., 1995; Fukunaga et al., 1995; Marconi, Garon, 1992). Она, очевидно, восходит к меловому периоду и связана с последующим распространением птиц.

Происхождение иксодовых клещей, судя по находкам их остатков в географически различном янтаре, восходит к меловому периоду (около 150–70 млн лет назад), а их формирование и расселение происходило на протяжении третичного периода (de la Fuente, 2003). Корни клещей группы *I. (I.) ricinus/persulcatus*, которая, как уже было упомянуто, имеет отношение и к палеогенезу вирусов группы КЭ, берут начало в позднем палеоцене (Филиппова, 1990; Filippova, 1991), т.е. примерно 50–55 млн лет назад. Вместе с этими процессами должна была происходить адаптация симбионтных микроорганизмов, включая боррелий и вирусы к переносчикам этой группы. В результате, очевидно, относительно независимо от происхождения современных АК-боррелий появились по крайней мере две дошедшие до наших дней ветви. Одну из них представляет *B. miyamotoi*, принципиально отличающиеся по структуре генома от *B. burgdorferi sensu lato* (см. разделы 3.2.1. и 7.4.4.). Вторая ветвь привела к становлению группы ИК-боррелий, во многом сохранивших черты симбионтных отношений со своими основными переносчиками (см. выше). Для становления современных ареалов иксодовых клещевых боррелиозов особенно важное значение приобретает история расселения клещей этого комплекса (Филиппова, 1990; Filippova, 1991). Рассматривая палеогенез данного комплекса, Н. Ф. Филиппова (1969, 1973, 1985) в качестве исходной посылки приняла общность района происхождения всех видов: горные леса Южной и Восточной Азии. По ее мнению, уже в плиоцене существовали все современные (а возможно и другие ныне вымершие виды этой группы), причем они (за исключением *I. persulcatus sensu stricto*), видимо, были широко распространены к западу и викарировали. По этой гипотезе, к концу плиоцена — в плейстоцене в связи с наступлением тайги с севера и степей с юга в Западной Сибири образовался разрыв между ареалами *I. ricinus* и *I. pavlovskyi*, причем последний отнесен к северным видам комплекса. В этот же период произошла дезъюнкция ареала *I. pavlovskyi* в Восточной Сибири. *I. persulcatus* в верхнем плиоцене имел

ограниченный восточными районами ареал, расширение которого к западу произошло позднее, параллельно со становлением ландшафтов тайги.

Палеарктические виды клещей комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus* — неотъемлемая часть фауны юга Палеарктики. Поэтому историю их ареалов, и следовательно историю ареалов связанных с ними облигатно трансмиссивных микроорганизмов, следует рассматривать в связи с историей этой фауны в целом. Для нее на самых различных группах животных прослеживается разрыв фаунистических комплексов и их поляризация на западе и востоке континента (Матюшкин, 1976; Lattin, 1967; Коренберг, 1996). При этом общая закономерность состоит в том, что в голоцене наблюдается тенденция к слиянию разобщенных форм. У значительного числа пар разобщенных видов соединение уже произошло, и известны примеры вторичной симпатрии, преимущественно обусловленные широкой экспансией восточного изолята (Матюшкин, 1976).

Прослеживаются два хорошо выраженные варианта схождения ареалов: северный, преимущественно равнинный (которому полностью соответствует пара *I. ricinus*–*I. persulcatus*), и южный, по широтно вытянутым горным системам через Гималаи, Гиндукуш и более западные горные системы. Формы с дезъюнктивными ареалами особенно часто свойственны хвойно-широколиственному лесам. Некоторые виды на Дальнем Востоке предпочитают хвойно-широколиственные леса, а их заметная связь с тайгой (как у *I. persulcatus*) формируется и постепенно усиливается по мере продвижению к западу (Матюшкин, 1976).

По нашему предположению (Коренберг, 1979), существовала единая древняя чрезвычайно широко распространенная транспалеарктическая бореальная предковая форма, от которой берут начало современные виды комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus*. К аналогичному выводу позднее пришли и другие исследователи (Балашов, 1989; Filippova, 1991). Сейчас трудно точно определить время происхождения этой предковой формы, но ее распространение связано, по всей видимости, с листопадной растительностью, которая господствовала на протяжении значительной части палеогена на преобладающей части северного полушария (Криштофович, 1946). Эта флора, а также сходные климатические и географические условия сохранились в Северной Азии и в западной части Северной Америки вплоть до позднего палеогена. Через Беренгийский мост, существовавший с некоторыми перерывами с позднего мела до позднего эоцена–раннего олигоцена, неоднократно происходили переселения целых флор и фаун (Куренцова, 1976; Новодворская, Яновская, 1976). Поэтому распространение общего предка группы *I. (I.) ricinus/persulcatus*, видимо, не ограничивалось Евразией и охватывало также по крайней мере часть Северной Америки (Балашов, 1989). Соответственно, видимо, существовали предковые симбионтные формы не только спирохет, но и других микроорганизмов, включая арбовирусы. От них в разное время и в разных регионах произошли рецентные формы микроорганизмов и, в частности, боррелии современной группы ИКБ (Telford, Spielman, 1992; Korenberg, 1994). Скорее всего, эти спирохеты происходят от широко распространенного и полиморфного

вида *B. garinii* (Fukunaga, Hamase, 1995; Postic et al., 1994, Postic, Baranton, 1994) или от его непосредственного не сохранившегося предшественника.

Дизъюнкции и сокращения ареала предковой формы клеща, связанные с изменениями климата и палеогеографией Евразии и Северной Америки, происходившие в разное время, особенно с конца плиоцена, очевидно, были важнейшей предпосылкой видообразования и становления ареалов современных видов клещей рассматриваемой группы, их боррелий и других связанных с ними микроорганизмов. Исчезновение Беренгийского моста и более позднее разобщение палеарктической части исходного ареала привели, как нам представляется (Коренберг, 1996), к возникновению трех самостоятельных областей формообразования: европейской, азиатской и североамериканской.

В первой из них появился клещ *I. ricinus* (не исключено, что и другие ныне вымершие виды этого комплекса) — в настоящее время главный переносчик боррелий, вируса КЭ, патогенных для человека эрлихий и анаплазм в Западной и Центральной Европе (см. разделы 2, 3, 4), характерный представитель европейской лесной фауны (Померанцев, 1948) и ее автохтон (Филиппова, 1977). Область распространения *I. ricinus* претерпела существенные изменения в ледниковый период (Померанцев, 1948). После отступления ледника произошла экспансия этого вида к северо-востоку и востоку, причем продвижение в восточном направлении, видимо, еще не закончилось (Коренберг, 1979). Скорее всего, именно в Европе окончательно сформировался одноименный генотип вируса КЭ (см. раздел 2.2.1) и появились некоторые ИКБ-спирохеты, включая недавно описанные как самостоятельные виды: *B. lusitaniae*, *B. valaisiana*, *B. spielmanii*, *B. bavariensis*, (Коренберг, Нефедова, 2010; Margos et al., 2011; раздел 3.2.1), которые обнаружены пока только в Европе, связаны с *I. ricinus*, причем имеют довольно ограниченное распространение.

В Южной и Восточной Азии формообразовательные процессы происходили весьма интенсивно. Здесь появились клещи *I. nipponensis*, *I. kazakstani*, *I. kashmiricus*, некоторые другие виды комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus*, включая наиболее распространенные сейчас *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* (Филиппова 1969, 1971, 1973, 1985). Эти два вида исходно связаны с хвойно-широколиственными и широколиственно-хвойными лесами, где и поныне отмечается экологический оптимум для *I. persulcatus*. Причины их дивергенции, учитывая симпатрию рецентных ареалов (Филиппова, 1971), остаются неясными. Весьма возможно, что они кроются в большей стенобионтности *I. pavlovskyi* и, в частности, в более жестких требованиях к условиям гидротермического режима. Рецентный ареал этого вида состоит из двух разобщенных частей: дальневосточной и алтайской (Филиппова, 1969, 1971, 1977) или сибирско-алтайской. Это разобщение ареала вида, который, скорее всего, продвигался и продолжает продвигаться на запад «южным путем», видимо, произошло сравнительно недавно, во всяком случае, позднее появления двух различных палеарктических областей формообразования (Коренберг, 1979). *I. pavlovskyi* способен самостоятельно поддерживать природные очаги боррелиоза

при очень низкой численности или даже в отсутствии *I. persulcatus*, причем независимо от соотношения этих видов в природных очагах в окрестностях г. Томска, например, у клещей обоих видов обнаруживаются *B. garinii* и *B. afzelii* при абсолютном преобладании *B. garinii* (Korenberg et al., 2009).

Жизненная схема клеща *I. persulcatus* — важнейшего переносчика боррелий группы ИКБ, вируса КЭ и, по полученным к настоящему времени данным (см. раздел 4.5), патогенных для человека анаплазм в Старом Свете — складывалась в условиях с продолжительным теплым периодом года. Видимо, первоначально ареал этого вида ограничивался востоком Евразии (Филиппова, 1971). Его интенсивное расселение на запад произошло сравнительно недавно, в конце плейстоцена–голоцене. Этому способствовало, с одной стороны, глобальное потепление, а с другой — значительная (по сравнению с другими палеарктическими видами комплекса) пластичность и эвритопность *I. persulcatus*, его меньшая требовательность к показателям гидродермического режима (Коренберг, 1979), а также выработавшаяся более прогрессивная гетерономная схема жизненного цикла (Белозеров, 1976), позволяющая приспосабливаться к сезонно-циклическим изменениям среды в различных условиях.

Параллельно с формообразованием переносчиков в восточной Азии происходили (и, очевидно, продолжают) не менее бурные процессы дивергенции связанных с ними боррелий. Об этом свидетельствует генотипическое и фенотипическое разнообразие боррелий (кроме *B. garinii* и *B. afzelii*, *B. tanukii*, *B. turdi*, *B. japonica*, *B. sinica*, *B. yangtze*), выявленное в данном регионе у клещей разных видов, включая *I. persulcatus* (Fukunaga et al., 1992, 1993, 1995, 1996; Kawabata et al., 1994; Postic et al., 1994; Postic, Baranton, 1994; Fukunaga, Hamase, 1995; Li et al., 1998; Takada et al., 1998; Masuzava et al., 2001; Chu et al., 2008; Margos et al., 2011). Вместе с этим переносчиком в западном направлении должно было происходить расселение и древних форм, экологически связанных с ним микроорганизмов, включая вирус КЭ. Не исключено, что такой путь, кроме *B. garinii*, проделала и распространенная сейчас по всей Евразии *B. afzelii*, которая филогенетически особенно тесно связана именно с *B. garinii* (Postic, Baranton, 1994; Fukunaga, Hamase, 1995; Margos et al., 2011). Во всяком случае в Америке *B. afzelii* (как и вирус КЭ) отсутствует, а данных, свидетельствующих о европейском происхождении этого вида, пока нет.

В североамериканской области формообразования возникли, по крайней мере, 3–4 вида клещей группы *I. (I.) ricinus/persulcatus*, среди которых главные переносчики боррелий группы ИКБ на этом континенте — клещи *I. scapularis (I. dammini)* и *I. pacificus*. Данная группа иксодовых клещей не имеет ни одного общего вида для Северной Америки и Евразии. Эта свидетельствует о том, что процессы формообразования в американской области происходили независимо от аналогичных событий в Евразии и уже после исчезновения межматериковой сухопутной связи. Процессы становления отдельных видов клещей этого комплекса продолжают в Северной Америке до настоящего времени. У клеща *I. dammini*, например, впервые

была обнаружена спирохета, оказавшаяся возбудителем болезни Лайма (Burgdorfer et al., 1982). Почти 10 лет он фигурировал в сотнях первых публикаций, связанных с изучением этой инфекции, а затем одни исследователи продолжили считать *I. dammini* самостоятельным видом, а другие — синонимом *I. scapularis* (Oliver et al., 1993; Spielman, 1993). Объективные доказательства в пользу определенной точки зрения до сих пор получить не удалось. И это не просто довольно обычные различия во взглядах между систематиками по поводу таксономического статуса того или иного объекта дискуссии. На наш взгляд (Коренберг, 1996), это в значительной мере объясняется незавершенностью процесса дифференциации двух рассматриваемых близких форм, что подтверждают результаты популяционно-генетических исследований (Wesson et al., 1993; Black, Piesman, 1994).

Изучение генома *B. burgdorferi sensu stricto* и других боррелий, распространенных только в США, показало, что они представляют собой единую ветвь, отстоящую от других геномных групп *B. burgdorferi sensu lato* (Postic et al., 1994). Между *B. burgdorferi sensu stricto* и *B. garinii* обнаружена тесная филогенетическая связь, позволяющая думать о происхождении первого названного геновида от второго (Carter et al., 1994; Postic, Baranton, 1994). Это подтверждает представления о том, что у боррелий группы ИКБ, как и у их переносчиков, после проникновения общих предковых форм на Американский континент формообразование происходило автономно, без связи с аналогичными процессами в Евразии (Korenberg, 1994). Нельзя не обратить внимание на напрашивающиеся аналогии между палеогенезом относящихся к разным царствам ИКБ-боррелий и вирионов группы КЭ, особенно если принимать во внимание тождество их основных переносчиков. *B. burgdorferi sensu stricto* — это, скорее всего, автохтонный американский геновид. Предположение, что он попал в Америку и продолжает заноситься туда трансатлантическим путем мигрирующими птицами, основанное только на микробиологических аргументах (Postic, Baranton, 1994), малоубедительно: в равной мере можно допустить, что этот процесс шел в противоположном направлении.

Наши взгляды о филогении и истории боррелий группы ИКБ в связи с историей их переносчиков не противоречат представлениям об основных процессах палеогеографии и эволюции растительного покрова Голарктики в рассмотренный промежуток времени (Криштофович, 1946; Синицин, 1962; Герасимов, Величко, 1982). Впервые они были представлены без малого 20 лет назад (Korenberg, 1994) и затем получили развернутую форму (Коренберг, 1996). Практически они полностью подтверждены результатами изучения боррелий более современными молекулярно-биологическими методами (Margos et al., 2011). Вместе с тем продемонстрирована сложность рассматриваемой проблемы и безосновательность упрощенных утверждений о совсем недавнем (несколько десятилетий назад) появлении возбудителя болезни Лайма в Северной Америке вследствие его заноса. Такой занос предковой формы, вероятно, действительно произошел, но в достаточно отдаленную эпоху, вместе с расселением предковой формы клещей группы *I. (I.) ricinus/persulcatus*. Главный вывод из изложенного заключается в том, что

различные виды современных боррелий группы ИКБ имеют, как нам представляется, азиатское, европейское или американское происхождение.

Для существующих в природе возбудителей природноочаговых инфекций организм человека — это новая и необычная среда обитания, освоение которой, независимо от его дальнейшего биологического смысла, возможно только при наличии у микроорганизмов особенностей, позволяющих им размножаться в этой среде. Эти особенности возникают в прежней среде обитания до совершенно случайной встречи с человеком, т.е. преадаптивно как побочный результат эволюционных изменений. Наличие определенных преадаптивных свойств микроорганизмов делает возможным и начало становления их взаимоотношений с членистоногими и позвоночными, которые в дальнейшем приобретают адаптивный характер.

Значение преадаптаций в эволюционных процессах в целом хорошо известно и периодически обсуждается с общебиологических позиций (Любищев, 1982). Преадаптивные признаки появляются как результат косвенного влияния естественного отбора. Они имеют потенциальную селективную ценность, которая может проявиться как адаптивный эффект при изменении внешних условий (Тимофеев-Ресовский и др., 1969; Георгиевский, 1971; Кулагин, 1978), и в частности позволяют виду занять новую экологическую нишу (Майр, 1968).

Эпизоотология, эпидемиология, экспериментальные исследования и применение различных позвоночных и беспозвоночных лабораторных моделей дают множество примеров, свидетельствующих о том, что определенные вирусы, риккетсии, бактерии и др. способны размножаться в организме некоторых позвоночных и членистоногих, которые вообще не встречаются и никогда не были распространены в пределах ареала тех прокариот, которые им вводили. При этом животные и человек зачастую оказываются высоковосприимчивыми к микроорганизмам, с которыми они по ареалогическим, экологическим или иным причинам обычно не сталкиваются (Львов, 1975). Еще Е. Н. Павловский (1946, С. 299) обратил внимание на то, что «некоторые животные от природы могут быть «предрасположены» к заражению паразитами, с которыми они едва ли имели какие-либо встречи в процессе своего филогенеза». Возбудители болезни Лайма и клещевого энцефалита, например, настолько хорошо размножаются на монгольских песчанках (*Meriones unguiculatus*), с которыми они никогда в природе не встречались, что этого степного грызуна предложено использовать для экспериментальной работы с боррелиями и вирусом (Kahl et al., 1998). Аналогичная по смыслу ситуация со степной пеструшкой уже упоминалась. Вирус классического КЭ, отсутствующий в Новом Свете, прекрасно размножается в американских клещах *Dermacentor anderson* (Каленчук, Мишаева, 1976). Хорошо известна способность многих микроорганизмов, нехарактерных для аргасовых клещей, сохраняться в них, особенно в организме кошарного клеща (*Alveonassus lahorensis*) (Гроховская и Сидоров, 1966; Филиппова, 1966), которого экспериментаторы называли за это своеобразной «консервной банкой». Число таких примеров, на часть из которых уже было обращено внимание (Гуцевич, 1967), можно было бы многократно увеличить. Паразито-хозяйственные отношения

(в их широком понимании) дают, таким образом, массу примеров преадаптаций, под которыми в данном случае подразумевается реализация генетически детерминированных возможностей (признаков), возникших до встречи видов, ставших в дальнейшем паразитом и хозяином (Коренберг, 1986). Паразитизм (в широком понимании этого явления) позволяет использовать возможности эволюционно уже возникшие у других организмов (Филипченко, 1937).

По отношению к паразитарным системам природноочаговых трансмиссивных простейших или гельминтов Ф. Ф. Сопрунов (1987) высказал следующие соображения: «...согласно разработанному в процессе длительной «эволюции» сценарию, в определенном порядке и с опережением событий жизненного цикла осуществляются потенциальные возможности, запрограммированные в геноме, и происходят метаболические перестройки в ответ на сигналы извне, которые позволяют эндопаразиту успешно завершить свой жизненный цикл» (С. 147). По мнению Ф. Ф. Сопрунова, такая многокомпонентная и многоярусная система хозяин–эндопаразит–переносчик не могла возникнуть «...в результате классической эволюции методом случайных проб и отбора», поскольку вероятность такого события, как показывает математический расчет, практически равна нулю. Становление паразитарных систем произошло благодаря тому, что «проявилась «молекулярно-генетическая преадаптация» к эндопаразитизму» (С. 182).

Для возбудителей зоонозов характерна полипатагенность и политропность (Беляков, Яфаев, 1989). Поэтому, на наш взгляд, преадаптивно у них, прежде всего, должна была возникнуть способность размножаться в разных тканях. С позиции общих представлений о развитии инфекционного процесса, факторы, способствующие интерференции микроорганизма с клеточными и гуморальными защитными механизмами хозяина и обеспечивающие его размножение *in vivo*, относят к наиболее важным группам факторов патогенности (Бондаренко, 1999). Еще К. Эндрюс (1969) обратил внимание на то, что некоторые арбовирусы, например, могут размножаться в пищеварительном тракте комнатных мух, саранчи, постельных клопов, жуков и бабочек. Такая способность, скорее всего, возникла преадаптивно. Но, как известно, внутриклеточные и тканевые паразиты, как правило, не могут длительно существовать в полости средней кишки многих насекомых и клещей (Балашов, 1984). Для становления трансмиссивного цикла важно, чтобы вирус, как и микроорганизмы других групп, преодолевал кишечный барьер, вызывал генерализованную (системную) инфекцию и попадал в слюнные железы кровососущих членистоногих. Названные процессы вполне могли формироваться разными путями, в том числе и селективным. Это не препятствует тому, что в системе возбудитель–переносчик можно наблюдать весь спектр отношений от комменсализма до паразитизма, причем чаще всего доминирует их антагонистическая форма (Балашов, 1984, 1995).

В любой природной популяции одновременно происходит множество селективных процессов. Однако единица, на которую действует отбор, — это организм в целом, а не его отдельный признак. Все эти селективные процессы нельзя рас-

сма­тривать как самостоя­тель­ные, неза­ви­си­мые со­бы­тия (Айала, 1981; Се­вер­цов, 2008). По­э­то­му па­то­ген­ные для че­ло­ве­ка свой­ства ми­кро­ор­га­низ­мов, по всей ви­ди­мо­сти, воз­ник­ли в раз­ных их груп­пах или да­же у раз­ных ви­дов не на­прав­лен­но. Фак­то­ры от­бо­ра, воз­дей­ст­во­вав­шие на эти про­цес­сы, мо­гли бы­ть весь­ма раз­но­об­раз­ны­ми.

Па­то­ген­ные (ви­ру­лен­тные и токсигенные) при­зна­ки ми­кро­ор­га­низ­мов кон­тро­ли­ру­ют­ся хро­мо­со­маль­ны­ми или плазмид­ны­ми ге­на­ми (Ти­ма­ков и др., 1983). С по­зи­ций мо­ле­ку­ляр­ной ми­кро­би­о­ло­гии фак­то­ры ви­ру­лен­тно­сти — это «...спе­ци­фиче­ские учас­тки и ком­по­нен­ты ми­кроб­ных ма­кро­мо­ле­кул и бо­лее круп­ных струк­тур, спо­соб­ные вы­зы­вать за­мет­ные фи­зи­ко-хи­ми­че­ские, функ­ци­о­наль­ные и струк­тур­ные из­ме­не­ния в бо­лее вы­со­ко­ор­га­ни­зо­ван­ной жи­вой еди­ни­це...», вклю­чая че­ло­ве­ка. Ос­нов­ной ме­ха­низм свя­зи ме­жду па­ра­зи­том и хо­зя­и­ном — их вза­им­о­дей­ст­вие на мо­ле­ку­ляр­ном уров­не. При этом «ви­ру­лен­тно­сть за­ви­сит... от вза­им­о­дей­ст­вия ме­жду уни­каль­ны­ми по кон­фор­ма­ции субъ­еди­ни­ца­ми (па­то­ген­ных) ми­кро­ор­га­низ­мов и ком­пле­мен­тар­ны­ми субъ­еди­ни­ца­ми в чув­ст­ви­тель­ном хо­зя­и­не». Каж­дая груп­па (кате­го­рия) па­то­ген­ных ми­кро­ор­га­низ­мов об­ла­да­ет ха­рак­тер­ной для нее со­во­куп­но­стью при­зна­ков. Она вклю­ча­ет вид па­ра­зи­ти­зма в ор­га­низ­ме хо­зя­и­на (мо­ле­ку­ляр­ный, внут­ри­клеточный, вне­клеточный), ло­ка­ли­за­цию раз­мно­же­ния (ядро, ци­то­плаз­ма, вне кле­ток), спо­соб ре­пли­ка­ции (хе­мо­транс­фор­ма­ция, двой­ное де­ле­ние, жи­знен­ный цикл) и важ­ней­шие фи­зи­ко-хи­ми­че­ские свой­ства (фильт­руе­мость, на­ли­чие кле­точ­ной стен­ки, рост в ис­кус­ст­вен­ной сре­де) (Ква­пин­ский, 1977, С. 38–40).

Воз­мож­ные ге­не­ти­че­ские ме­ха­низ­мы, спо­соб­ст­вую­щие «скач­ко­об­раз­но­му» по­яв­ле­нию па­то­ген­но­сти ви­ру­сов, рик­кет­сий, бак­те­рий, рас­смот­рен­ные ра­нее (Ко­рен­берг, 2005, 2006, 2010), не оди­на­ко­вы, при­чем у бак­те­рий они, ви­ди­мо, бо­лее раз­но­об­раз­ны. Дан­ные со­вре­мен­ной ге­не­ти­ки ми­кро­ор­га­низ­мов на­пол­ня­ют кон­крет­ным со­дер­жа­ни­ем вы­вод, ко­то­рый был сде­лан е­ще в се­ре­дине про­ш­ло­го ве­ка: «как па­ра­зи­тизм мог воз­ник­нуть од­ним скач­ком, так и па­то­ген­ность или от­сут­ст­вие ее мо­гли об­на­ру­жить­ся так же слу­чай­но и так же неза­ви­си­мо от эле­мен­та вре­ме­ни» (Болл, 1944). Но­вые ва­ри­ан­ты па­то­ге­нов те­о­ре­ти­че­ски мо­гут про­изой­ти при ста­би­ли­за­ции но­во­го эле­мен­та в но­вом ге­не­ти­че­ском ок­ру­же­нии и при оп­ти­маль­ной экс­прес­сии при­об­ре­тен­ных ге­нов. В даль­ней­шем всту­па­ют в дей­ст­вие ме­ха­низ­мы вза­им­ной а­дап­та­ции па­то­ге­на и его е­стес­т­вен­но­го хо­зя­и­на (Ро­ма­но­ва и др., 2001).

Из­ло­жен­ное хо­ро­шо со­гласу­ет­ся с пред­став­ле­ни­я­ми об уни­вер­саль­но­сти ос­нов­ных фак­то­ров па­то­ген­но­сти как о ме­ха­низ­мах, обес­пе­чи­ва­ю­щих воз­мож­ность су­ще­ст­во­ва­ния бак­те­ри­аль­ных по­пу­ля­ций в раз­ных сре­дах оби­та­ния (До­мо­рад­ский, 1990, 1993; Лит­вин, Пуш­ка­ре­ва, 1994; Бу­ха­рин, Лит­вин, 1997; Лит­вин и др., 1998) и с кон­цеп­цией слу­чай­но­го па­ра­зи­ти­зма па­то­ген­ных бак­те­рий, ко­то­рая бы­ла раз­ви­та на при­ме­ре воз­будител­ей при­род­но­оча­го­вых са­про­но­зов, об­ла­да­ю­щих ря­дом пре­а­дап­тив­ных свой­ств (Со­мов, Лит­вин, 1988; Лит­вин, 1991, 1991а, 1992). Мно­гие свой­ства воз­будител­ей са­про­но­зов, вы­ра­ботан­ные для оби­та­ния

в сообществах почв и водоемов, в определенной мере обеспечивают также возможность их существования в организме теплокровных животных и имеют характер преадаптаций (Литвин, 1992; Литвин и др., 1998).

1.4. Пути появления «новых» природноочаговых инфекций

В условиях, соответствующих экологическим требованиям возбудителя, природные очаги существуют длительное время, во многих случаях, очевидно, веками, демонстрируя при этом большую устойчивость к воздействию на паразитарную систему абиотических, биотических и антропогенных факторов. Мысль о том, что так называемые новые природноочаговые зоонозы начинают привлекать к себе внимание обычно только после того, как обнаруживается этиологическая роль соответствующих возбудителей в инфекционной патологии, давно ясно сформулировал Е. Н. Павловский (1946). Как уже упомянуто (раздел 1.2), в последние годы приобрели большую популярность и широкое распространение поддерживаемые ВОЗ (Heymann and Dzenowagis, 1998) термины «emerging» и «re-emerging infectious diseases» (Захарычева, 2009; Рудаков и др., 2002 и др.). В. П. Сергиев с соавторами (2000) справедливо отметил, что эти термины были неудачно переведены на русский язык как «новые и возвращающиеся инфекции», что привело к определенной путанице. На самом деле термин «emerging infectious diseases» было предложено применять по отношению к любым заболеваниям, число которых увеличилось в течение двух последних десятилетий или грозит увеличиться в ближайшем будущем, а «re-emerging diseases» — к заболеваниям, борьба с которыми ранее была успешной, но которые снова распространились (Lederberg et al., 1992). Под эти определения в западной литературе попадают практически все природноочаговые зоонозы, включая передающиеся переносчиками, и в частности иксодовыми клещами (Telford, 1991; Meslin, 1997; Barbour, 1998; Childs 1998; Gubler, 1998; Murphy, 1998; Winch, 1998 и др.). Такой подход, имеющий некоторый полезный утилитарный смысл для практического здравоохранения (Wilson, 1999) и во многом напоминающий трактовку финансистами понятия «emerging stock market» (Mobius, 1996), по сути лишен строгого эпидемиологического содержания, поскольку причины и факторы, способствующие возникновению «emerging» и «re-emerging» болезней, относящихся к разным группам (к антропонозам, зоонозам, сапронозам и др.), совершенно различны (Farmer, 1996; Morse, 1995; Wilson, 1995; Korenberg, 2000; Telford III, Goetert, 2004). Уровень заражаемости природноочаговыми инфекциями — это результат взаимодействия двух величин: лоймопотенциала очага и интенсивности контакта людей с природными очагами. Лоймопотенциал, как правило, нестабилен. Он определяется экологическими процессами, происходящими в экосистеме и влияющими на динамику эпизоотического процесса. Каждый его цикл, как уже говорилось выше (раздел 1.2), включает фазу резервации возбудителя, причем

у некоторых природноочаговых инфекций эта фаза может затягиваться на годы или даже десятилетия. Поэтому во многих случаях речь должна идти не о мифическом появлении той или иной инфекции, а об активизации ее природных очагов, т.е. о переходе фазы резервации возбудителя в фазу его эпизоотического распространения (интенсивной циркуляции). Даже при активной циркуляции возбудителя эпидемическое проявление природных очагов может отсутствовать, если численность населения невелика и люди редко контактируют с ними. Поэтому термины «emerging» и «re-emerging» в их истинном значении не отражают сущность эпизоотического и эпидемического процессов при природноочаговых инфекциях (Korenberg, 2000).

Возможные пути выявления новых для науки возбудителей (или новых заболеваний) были рассмотрены ранее (Сергиев и др., 2000, 2003). Несколько модифицированные применительно к природноочаговым инфекциям, они выглядят следующим образом:

— установление неизвестного этиологического агента ранее описанного заболевания (например, КЭ, Лайм боррелиоз, окопная лихорадка и др.);

— описание нового, ранее неизвестного возбудителя болезни, появившейся в результате возросшего контакта человека с природными очагами или с больными домашними животными (например, геморрагические лихорадки Ласа, Марбург, Эбола, некоторые хантавирусные инфекции, астраханская пятнистая лихорадка и др.);

— описание возбудителя новой болезни, появившейся в результате создания человеком условий для его существования в урбанизированной среде (например, легионеллез, и др.);

— описание нового возбудителя или варианта известного возбудителя, позволяющего выделить «новую» инфекционную болезнь из группы клинически сходных заболеваний, ранее трактовавшихся как единая нозоформа (иксодовые клещевые боррелиозы, некоторые иерсиниозы и хантавирусные инфекции и др.).

Быстрое расселение возбудителей природноочаговых зоонозов и увеличение их ареалов происходит в полном соответствии с общими экологическими закономерностями, описанными для животных и растений (Elton, 1958). Общеизвестный пример — занос миксоматоза в Австралию и его быстрое распространение на этом континенте среди кроликов. Пример последнего десятилетия — занос птицами в США вируса лихорадки Западного Нила, его быстрое распространение почти по всей стране и, по всей видимости, укоренение на ее территории (White and Morse, 2001; Черкасский, 2008). Вместе с тем поспешные и необоснованные представления о заносе патогенных микроорганизмов на другие континенты, которые обычно возникают всякий раз, когда начинают изучать неизвестное ранее природноочаговое заболевание, как правило, довольно быстро приходится пересматривать. Так, вскоре после открытия этиологического агента болезни Лайма в США было высказано мнение, что инфекция была недавно занесена туда из Европы (Barbour, Hayes 1986). Принимая

во внимание данные других исследователей, тот же автор позднее отказался от этой идеи и пришел к выводу, что микроорганизм-возбудитель давно существует на обоих континентах («these organisms have been long established on both continents» — Barbour 1998, P. 647).

Так называемые новые природноочаговые зоонозы начинают привлекать к себе внимание обычно только после того как обнаруживается этиологическая роль соответствующих возбудителей в инфекционной патологии. Только за последние 20–25 лет был описан ряд неизвестных ранее арбовирусных, хантавирусных, эрлихиозных, спирохетозных и других природноочаговых инфекций. Этот список, несомненно, еще будет дополняться новыми открытиями. В этой связи важно иметь в виду, что «болезни с природной очаговостью стары для природы и новы лишь в отношении времени и условий поражения ими людей, и еще более новы, если судить о времени, когда врач научился правильно их распознавать» (Павловский, 1946, С. 24).

1.5. Значение инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в инфекционной патологии

Из природноочаговых инфекций в России наибольшее значение в инфекционной патологии имеют 5–6 нозоформ бактериальной, вирусной и риккетсиозной этиологии. Из них в последние 6 лет наибольшее число зарегистрированных случаев (более 56,5 тыс.) приходится на иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ). За этот же период было выявлено почти 24,5 тыс. заболеваний клещевым энцефалитом (КЭ). Совокупная доля ИКБ и КЭ в общей структуре природноочаговых инфекционных заболеваний России составляет примерно 45–47% (рис. 1.3). При этом нужно учитывать, что данные о заболеваемости гранулоцитарным анаплазмозом и моноцитарным эрлихиозом человека (ГАЧ и МЭЧ) пока вообще отсут-

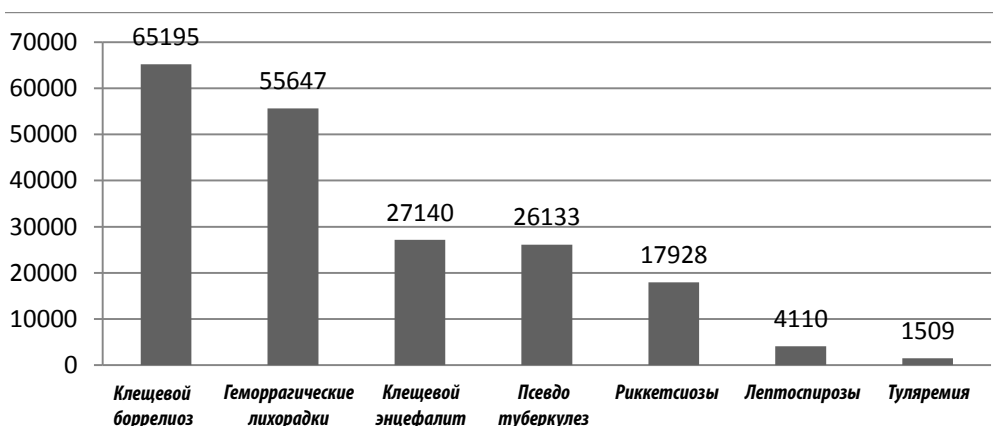


Рис. 1.3. Число заболеваний природноочаговыми инфекциями в Российской Федерации по официальным статистическим данным в 2006–2012 гг.

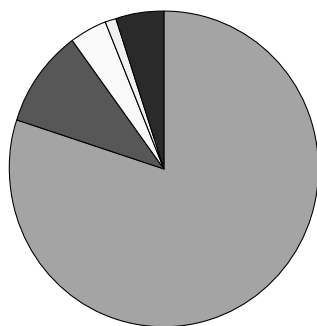


Рис. 1.4. Структура инфекционной заболеваемости по многолетним данным Пермской Краевой инфекционной больницы №1. Условные обозначения:

1 — Различные инфекционные заболевания, не связанные с укусом клеща

2 — ИКБ

3 — КЭ

4 — Микст-инфекции (ИКБ + КЭ)

5 — Заболевания невыясненной этиологии, возникшие после укуса клеща, среди которых ГАЧ и МЭЧ (см. раздел 4).

ствуют, поскольку эти инфекции не включены в официальную форму статистической отчетности по инфекционным заболеваниям в России, а их клиническая и лабораторная диагностика осуществляется еще далеко не повсеместно. Между тем накапливающиеся разрозненные сведения позволяют предполагать, что по крайней мере в ряде регионов страны случаев ГЭЧ очевидно может быть не меньше, чем КЭ (раздел 4). Это означает, что в настоящее время отсутствуют объективные данные для достоверной обобщенной оценки роли инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в инфекционной патологии. Однако с уверенностью можно считать, что она в России значительно весомее, чем это показывают имеющиеся статистические показатели.

В доступном (опубликованном) виде такая информация имеется только по нескольким регионам, например по Пермскому краю, который из-за ландшафтных особенностей и высокой плотности населения всегда занимал и продолжает занимать одно из первых мест в России по числу заболеваний, связанных с укусами клещей. Так, спектр инфекционной заболеваемости среди пациентов старше 14 лет репрезентативно демонстрирует многолетние данные Краевой инфекционной больницы № 1 г. Перми, куда с этой территории ежегодно поступает до 60 % всех взрослых больных инфекционными болезнями (рис. 1.4). В общей сложности 20% из них были связаны с укусом клеща (Фризен и др., 2004). Судя по показателям заболеваемости инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, и ее этиологической структуре, подобная ситуация характерна и для детей (Мерзлова, Самаров, 2012).

Во многих субъектах Российской Федерации диагностированы и серологически верифицированы далеко не единичные клинически выраженные случаи, вызванные одновременно возбудителями КЭ и ИКБ, КЭ и ГАЧ, ИКБ и ГАЧ, а также заболевания иной сочетанной этиологии. Это резко изменило представления об этиологическом «пейзаже» болезней, возникающих после укуса иксодовых клещей. Стало ясно, что любое такое заболевание следует рассматривать как потенциальную микст-инфекцию. Возможность передачи клещами микст-инфекций переросла в актуальную практическую проблему здравоохранения (см. раздел 5).

1.6. Литература

- Айала Ф. Х. // Эволюция. Мир. М., 1881. С. 33.
- Ананьин В. В. (ред.). Лептоспирозы людей и животных. Медицина. М., 1971. 352 с.
- Ананьин В. В., Карасева Е. В. Природная очаговость лептоспирозов. Медгиз. М., 1961. 290 с.
- Ананьина Ю. В. // ЖМЭИ. 1996. № 3. С. 19–21.
- Бакулов И. А., Третьяков А. Д. (ред.) Руководство по общей эпизоотологии. Колос. М., 1979. 424 с.
- Балашов Ю. С. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина. М., 1972. С. 162.
- Балашов Ю. С. // Зоол. журн. 1984. Т. 63, вып. 3. С. 325.
- Балашов Ю. С. // Паразитология. 1989. Т. 23. № 6. С. 457
- Балашов Ю. С. // Паразитология. 1995. Т. 29. № 5. С. 337.
- Балашов Ю. С. // Паразитология. 1999. Т. 33. № 3. С. 210.
- Беклемишев В. Н. // Мед. паразитол. 1948. Т. 17. № 5. С. 358.
- Беклемишев В. Н. // Зоол. журн. 1956. Т. 35, вып. 12. С. 1765.
- Беклемишев В. Н. // Мед. паразитол. 1959а. Т. 28. С. 319.
- Беклемишев В. Н. // Зоол. журн. 1959б. Т. 38, вып. 8. С. 1128.
- Беклемишев В. Н. // Мед. паразитол. 1961. № 4. С. 387.
- Белозеров В. Н. // Доклады на 28-м ежегодном чтении памяти Н.А. Холодковского. Наука. Л., 1976. С. 53.
- Беляков В. Д. // Военная эпидемиология. Л., 1976. 379 с.
- Беляков В. Д. // Природноочаговые заболевания Сибири и Дальнего Востока. Владивосток, 1979. С. 9.
- Беляков В. Д. // ЖМЭИ. 1985. № 5. С. 53.
- Беляков В. Д., Голубев Д. Б., Каминский Г. Д., Тец В. В. Саморегуляция паразитарных систем. Медицина. Л., 1987. 239 с.
- Беляков В. Д., Яфаев Р. Х. Эпидемиология. Медицина. М., 1989. 416 с.
- Бериков В. Б., Лбов Г. С., Полякова Г. Л. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2012. № 6. С. 25.
- Бибикова В. А., Класовский Л. Н. Передача чумы блохами. Медицина. М., 1974. 188 с.
- Биологический энциклопедический словарь. // Советская энциклопедия. М., 1986. 831 с.
- Болл Г. Х. // Успехи соврем. биологии. 1944. Т. 18. № 1. С. 72.
- Болотин Е. И. Функциональная организация природных очагов зоонозных инфекций. ДВГТУ. Владивосток, 2002. 149 с.
- Болотин Е. И., Бурухина Е. Г. // Паразитология. 2009. Т. 45, вып. 5. С. 418.
- Болотин Е. И., Горковенко Л. Е. // Паразитология. 1998. Т. 32, вып. 1. С. 32.
- Бондаренко В. М. // ЖМЭИ. 1999. № 5. С. 34.
- Бондаренко В. М., Яблочков А. Л. // ЖМЭИ. 1986. № 8. С. 92.
- Бухарин О. В., Литвин В. Ю. Патогенные бактерии в природных экосистемах. Екатеринбург, 1997. 275 с.
- Быховская-Павловская И. Н. // Вопросы природной очаговости болезней. Наука. Алма-Ата, 1981. Вып. 12. С. 118.
- Валента В. // Prirodne ohniska nakaz. SAVol. Bratislava. 1956. P. 325.
- Воронов А. Г. // Вестник Моск. ун-та. География. 1967. Вып. 2. С. 3.
- Галузо И. Г. // Вестник АН КазССР. 1954. № 7 (112). С. 10.
- Галузо И. Г. // Паразиты и паразитозы животных и человека. Киев, 1975. С. 14.
- Георгиевский А. Б. // Журн. общей биологии. 1971. Т. 32. № 5. С. 573.

- Гоар С. А. // Зоол. журн. 1960. Т. 39, вып. 16. С. 801.
- Громашевский Л. В. // Общая эпидемиология. Медицина. М., 1965. 290 с.
- Громашевский Л. В. // Мед. паразитол. 1965а. № 6. С. 729.
- Громашевский Л. В., Вайндрах Г. М. Возвратный тиф. Медгиз. М., 1946. 146 с.
- Гроховская И. М. и Сидоров В. Е. // ЖМЭИ. 1966. № 6. С. 133.
- Гуцевич А. В. // Паразитология. 1967. Т. 1. № 2. С. 161.
- Доморадский И. В. // Мол. генетика, вирусол., микробиол. 1990. № 9. С. 3.
- Доморадский И. В. // ЖМЭИ. 1993. № 1. С. 103.
- Доморадский И. В. // ЖМЭИ. 1997. № 4. С. 16.
- Дубровский Ю. А. // Мед паразитол. 1976. Т. 45. Вып. 3. С. 274.
- Дык В. // Prirodne ohnika nakaz. SAVol. Bratislava. 1956. P. 324.
- Елкин И. И. (ред.) // Курс эпидемиологии. Медгиз. М., 1958. 432 с.
- Жданов В. М. // Эволюция заразных болезней человека. Медицина. М., 1964. 376 с.
- Захарычева Т. А. // Национальные приоритеты России. 2009. № 2. С. 68.
- Каленчук В. У., Мишаева Н. П. // Вопросы лабораторной диагностики вирусных инфекций: материалы симпозиума. Минск. 1976. С. 60.
- Каримова Т. Ю., Неронов В. М. 2007. Природные очаги чумы Палеарктики. Наука. М., 199 с.
- Квапинский Е. Молекулярная микробиология. Мир. М., 1977. С. 12.
- Ковалев Г. К. // ЖМЭИ. 1976. № 2. С. 21.
- Ковалева Е. П., Лысенко А. Я., Никитин Д. П. // Урбанизация и проблемы эпидемиологии. Медицина. М., 1982. 174 с.
- Коренберг Э. И. // X Всесоюз. Конф. по природной очаговости болезней. 1. Алма-Ата, 1979. С. 45.
- Коренберг Э. И. // Биохорологическая структура вида (на примере таежного клеща). Наука. М., 1979а. 171 с.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. и паразит. болезни. 1981. 3. С. 3.
- Коренберг Э. И. // Что такое природный очаг. 1983. Знание. М., 64 с.
- Коренберг Э. И. // ЖМЭИ. 1985. № 3. С. 99.
- Коренберг Э. И. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л. 1985. С. 199.
- Коренберг Э. И. // Вопросы природной очаговости болезней. Наука. Алма-Ата, 1986. № 14. С. 12.
- Коренберг Э. И. // Проблемы инфектологии. Медицина. М., 1991. С. 334.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 1996. Т. 116, № 4. С. 389.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2005. Т. 125, № 2. С. 131.
- Коренберг Э. И. // Природа. № 10, 2006. С. 33.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. Т. 89, № 1. 2010. С. 5.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. № 4. 2010. С. 22.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Зоол. журн. 1977. Т. 56, № 10. С. 1467.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Итоги науки и техники. Медицинская География. ВИНТИ. М., 1981. Т. 11. 148 с.
- Коренберг Э. И., Литвин В. Ю. // Эпидемиол. вакцинопроф. 1. 2010. С. 5.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В. // Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Бином. М., 2010. С. 844.
- Коренберг Э. И., Юркова Е. В. // Мед. паразитол. 1983. № 3. С. 3–10.
- Коротков Ю. С. // Вопросы вирусологии. 2005. № 3. С. 52.
- Коротков Ю. С. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. 2007. № 3 (55). С. 121.
- Кравцов Ю. В., Ряпис Л. А. // ЖМЭИ. 1991. № 11. С. 63.
- Криштофович А. Н. // Материалы по истории флоры и растительности СССР. АН СССР. М.-Л. 1946. С. 21.
- Кулагин Ю. З. // Журн. общей биологии. 1978. Т. 39. № 6. С. 823.
- Куренцова Г. Е. // Беренгия в кайнозое. Владивосток, 1976. С. 177.
- Кутырев В. В., Ерошенко Г. А., Попов Н. В. и др. // Мол. генетика, микробиол. и вирусол. 2009. № 4. С. 6.
- Кучерук В. В. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней и дальнейшие задачи. Медицина. М., 1972. С. 180.
- Кучерук В. В. // Мед. паразитол. 1976. Т. 45. № 3. С. 262.

- Кучерук В. В. // Теоретические и прикладные аспекты биогеографии. Наука. М., 1982. С. 122.
- Кучерук В. В., Неронов В. М., Иванова Л. М. // География природноочаговых болезней человека в связи с задачами их профилактики. Медицина. М., 1969. С. 171.
- Кучерук В. В., Росицкий Б. // Мед паразитол. 1984. № 3. С. 7.
- Лавровский А. А., Попов Н. В. // Проблемы особо опасных инфекций. 1978. Вып. 2 (60). С. 5.
- Ласт Д. М. (ред.) Эпидемиологический словарь. Глобус. М., 2009. 316 с.
- Лбов Г. С., Полякова Г. Л., Гусев В. А. и др. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Сиб. отд. РАН. Новосибирск, 2011. С. 163.
- Литвин В. Ю. // Успехи совр. биол. 1983а. Т. 96, № 1. С. 151.
- Литвин В. Ю. // Вопросы природной очаговости болезней. Наука. Алма-Ата. 1983б. Вып. 13. С. 24.
- Литвин В. Ю. // Вопросы природной очаговости болезней. Наука. Алма-Ата. 1986. Вып. 14. С. 114.
- Литвин В. Ю. // Проблемы инфектологии. Медицина. М., 1991. С. 343.
- Литвин В. Ю. // Потенциально патогенные бактерии в природе. М., 1991а. С. 9.
- Литвин В. Ю. // ЖМЭИ. 1992. № 1. С. 52.
- Литвин В. Ю. // ЖМЭИ. № 5. 1999. С. 26.
- Литвин В. Ю., Гинцбург А. Л., Пушкарева В. И., Романова Ю. М., Боев Б. В. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. М., 1998. 256 с.
- Литвин В. Ю., Емельяненко Е. Н., Пушкарева В. И. // ЖМЭИ. 1996. № 2. С. 101.
- Литвин В. Ю., Коренберг Э. И. // Паразитология. 1999. Т. 33, № 3. С. 179.
- Литвин В. Ю., Пушкарева В. И. // ЖМЭИ. Приложение. 1994. С. 83.
- Локтев В. Б. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. СО РАН. Новосибирск, 2011. С. 257.
- Локтев В. Б., Терновой В. А., Нетесов С. В. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 10.
- Львов Д. К. // Методологические проблемы вирусологии. М., 1975. С. 124.
- Львов Д. К., Никитин А. Ф. // Проблемы природной очаговости. С.-Петербург. 1999. С. 9.
- Любезнова О. Н., Бондаренко А. Л. // Эпидемиол. и вакцинопрофилактика. 2012. № 2. С. 48.
- Любичев А. А. // Проблемы формы систематики и эволюции организмов. Наука. М., 1982. 278 с.
- Майр Э. // Зоологический вид и эволюция. Мир. М., 1968. 597 с
- Малеев В. В., Галимзянов Х. М., Бутенко А. М., Чернов И. В. // Крымская геморрагическая лихорадка. Москва-Астрахань. 2003. 118 с.
- Материалы X съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 1–2. 576 с.
- Матюшкин Е. Н. // Зоол. журн. 1976. Т. 55, № 9. С. 1277.
- Медников Б. М. // Дарвинизм в XX веке. «Советская Россия». М., 1975. 223 с.
- Мерзлова Н. Б., Самаров М. Н. // Мед. паразитол. 2012. № 2. С. 23.
- Мошковский Ш. Д. // Основные закономерности эпидемиологии малярии. АМН СССР. М., 1950. 323 с.
- Мошковский Ш. Д. // ЖГЭМ. 1961. № 5. С. 125.
- Наумов Р. Л. // Паразитология. 1983. Т. 17, № 5. С. 337.
- Наумов Р. Л., Гутова В. П. // Паразитология. 1987. Т. 21, № 5. С. 605.
- Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. Медицина. М., 1970. 270 с.
- Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. // Туляремия. Медгиз. М., 1960. С. 136.
- Онищенко Г. Г. (ред.) // ЖМЭИ. 2008. № 4. 128 с.
- Онищенко Г. Г., Ефременко В. И. // ЖМЭИ. 2004. № 4. С. 86.
- Онищенко Г. Г., Кутырев В. В. (ред.) Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. Медицина. М., 191 с.
- Павловский Е. Н. // Природа. 1934. № 1. С. 80.
- Павловский Е. Н. // Вестник АН СССР. 1939. № 10. С. 98.
- Павловский Е. Н. // Ж. общ. биол. 1945. № 2. С. 65.
- Павловский Е. Н. // Зоол. журн. 1946. № 4. С. 289.
- Павловский Е. Н. // Ж. общ. биол. 1946а. Т. 7, № 1. С. 3.

- Павловский Е. Н. // Зоол. журн. 1947. Т. 27. № 4. С. 297.
- Павловский Е. Н. // Зоол. журн. 1948. № 2. С. 97.
- Павловский Е. Н. Руководство по паразитологии человека с учением о переносчиках трансмиссивных болезней. Изд. АН СССР. М.-Л. 1948а. 1022 с.
- Павловский Е. Н. Природная очаговость болезни человека и краевая эпидемиология. Медгиз. Л. 1955. С. 17.
- Павловский Е. Н. // Клин. медицина. 1957. № 10. С. 99.
- Павловский Е. Н. // Журн. общей биол. 1959. Т. 20, № 5. С. 329.
- Павловский Е. Н. Природноочаговые болезни человека. Медгиз. М., 1960. С. 6.
- Павловский Е. Н., Галузо И. Г. // Prirodne ohniska nakaz. SAVol. Bratislava. 1956. P. 296.
- Пальцев М. А., Хаитов Р. М., Алексеев Л. П. Иммуногенетика человека и биобезопасность. Медицина. М., 2009. 256 с.
- Петрищева П. А. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина. М., 1972. С. 3.
- Петрищева П. А. // Там же. 1972а. С. 37.
- Петровская В. Г. // Проблема вирулентности бактерий. Медицина. М., 1967. 263 с.
- Покровский В. И., Черкасский Б. Л. // Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Медицина. М. 1993. Т. 1. С. 5.
- Померанцев В. И. // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. Л. 1948. Т. 7. № 3. С. 132.
- Пушкарева В. И., Ермолаева С. А., Литвин В. Ю. // Зоол. журн. № 1. 2010. С. 37.
- Пушкарева В. И., Литвин В. Ю., Ермолаева С. А. // Эпидемиол. и вакцинопроф. № 2. 2012. С. 10.
- Пушкарева В. И., Литвин В. Ю., Шустрова Н. М. // ЖМЭИ. 1994. № 3. С. 52.
- Ралль Ю. М. // Природная очаговость и эпизоотология чумы. Медицина. М., 1965. 363 с.
- Рахманин П. П. // Вопросы природной очаговости болезней. Наука. Алма-Ата. 1973. Вып. 6. С. 5.
- Риклефс Р. // Основы общей экологии. Мир. М., 424 с.
- Рокицкий П. // Коммунист. 1978. № 9. С. 69.
- Романова Ю. М., Ильина Т. С., Гинцбург А. Л. // Вестник РАМН. № 11. 2001. С. 15.
- Рудаков Н. В., Матущенко А. А., Шпынов С. Н., Рудакова С. А. // Бюлл. Восточно-Сиб. научн. центра. 2002. Т. 2. № 4. С. 16.
- Рудаков Н. В., Шпынов С. Н., Самойленко И. Е., Оберт А. С. // Клещевой риккетсиоз и риккетсиоз группы клещевой пятнистой лихорадки в России. ИЦ «Омский научный вестник». Омск, 2011. 231 с.
- Румянцев С. Н. // Ж. общ. биол. 1977. № 4. С. 500.
- Северцов А. С. // Эволюционный стазис и микроэволюция. КМК. М., 2008. 176 с.
- Сергиев В. П., Литвин В. Ю., Диденко Л. В. и др. // ЖМЭИ. 2003. № 2. С. 75.
- Сергиев В. П., Мальшиев Н. А., Дрынов И. Д. Инфекционные болезни и цивилизация. Прошлое, настоящее, будущее. П-Центр. М., 2000. 207 с.
- Сергиев В. П., Филатов Н. Н. Инфекционные болезни на рубеже веков. Осознание биологической угрозы. 2006. Наука. М., 571 с.
- Смирнова С. Е. // Крымская-Конго геморрагическая лихорадка. Этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика. АТиСО. М., 2007. 303 с.
- Сомов Г. П., Литвин В. Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий. Наука. Новосибирск, 1988. 207 с.
- Сомов Г. П., Покровский В. И., Беседнова Н. Н., Антоненко Ф. Ф. Псевдотуберкулез. Медицина. М., 2001. 254 с.
- Сонин М. Д., Беэр С. А., Ройтман В. А. // Паразитология. 1997. Т. 31, вып. 5. С. 452.
- Сопрунов Ф. Ф. Молекулярные основы паразитизма. Наука. М., 1987. 224 с.
- Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. Т. 3. Мир. М., 1979. 486 с.
- Субботина Е. Л., Локтев В. Б. // Мол. биология. 2012. Т. 46, № 1. С. 82.
- Тарасевич И. В. Астраханская пятнистая лихорадка. Медицина. М., 2002. 171 с.
- Тартаковский И. С. // Вестник РАМН. 2001. № 11. С. 11.
- Тартаковский И. С., Малеев В. В., Ермолаева С. А. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика. Медицина для всех. М., 2001. 195 с.
- Терских В. И. // Лептоспирозы. Медгиз. М., 1952. 55 с.
- Терских В. И. // ЖМЭИ. 1958. № 8. С. 118.
- Тимаков В. Д., Левашов В. С., Борисов Л. Б. Микробиология. Медицина. М., 1983. 512 с.

- Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. Наука. М., 1969. 407 с.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Яблоков А.В., Готов Н.В. Очерк учения о популяции. Наука. М., 1973. 277 с.
- Фаворова Л.А., Чернышова Т.Ф., Бежцева Н.И., Михайлов А.К. // Мед. паразитол. 1965. 6. С. 733.
- Фаворова Л.А., Чернышова Т.Ф., Бежцева Н.И., Михайлов А.К., Трифонов В.И. // Мед. паразитол. 1967. 3. С. 319.
- Филиппова Н.А. // Фауна СССР. Паукообразные. Т. 1У, вып. 3. Аргасовые клещи (*Argasidae*). Наука. М.-Л., 1966. 255 с.
- Филиппова Н.А. // Энтомол. Обзорение. 1969. Т. 48. № 3. С. 675.
- Филиппова Н.А. // Паразитология. 1971. Т. 5, № 5. С. 385.
- Филиппова Н.А. // Паразитология. 1973. Т. 7, № 1. С. 3.
- Филиппова Н.А. // Фауна СССР. Паукообразные. Т. 4. Вып. 4. Наука. Л., 1977. 396 с.
- Филиппова Н.А. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 204.
- Филиппова Н.А. // Паразитология. 1990. Т. 24, № 4. С. 257.
- Филиппенко А.А. // Учен. записки ЛГУ. Серия биол. 1937. Т. 4. С. 4.
- Фризен В.И., Афанасьева М.В., Коренберг Э.И. и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. № 2. С. 27.
- Харитоновна Н.Н., Леонов Ю.А. Омская геморрагическая лихорадка (Экология возбудителя, эпизоотология). Наука, Новосибирск. 1978. 222 с.
- Черкасский Б.Л. Преобразование природы и здоровье человека. «Мысль». М., 1981. 173 с.
- Черкасский Б.Л. Системный подход в эпидемиологии. Медицина. М., 1988. 286 с.
- Черкасский Б.Л. Глобальная эпидемиология. Практическая медицина. М., 2008. 446 с.
- Чеснова Л.В. // Проблемы общей энтомологии. М., 1974. 208 с.
- Четвериков С.С. // Журн. эксперимент. биол. 1926. Серия А. Т. 2. С. 3.
- Чунихин С.П., Куренков В.Б., Дживанян Т.В. и др. // Мед. паразитол. 1979. № 2. С. 61.
- Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. Наука. М., 1980. 278 с.
- Шмальгаузен И.И. // Бюлл. МОИП, биол. 1961. Т. 66, № 2. С. 104.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. Наука. М., 1968. 451 с.
- Шустрова Н.М., Дубровский Ю.А. // Потенциально патогенные бактерии в природе. М., 1991. С. 30–42.
- Эндрюс К. Естественная история вирусов. Мир. М., 1969. 312 с.
- Эфроимсон В.П. Иммуногенетика. Медицина. М., 1971. 335 с.
- Яфаев Р.Х., Зуева Л.П. // Эпидемиология внутрибольничной инфекции. Медицина. Л., 1989. 166 с.
- Baltazard M. // Med. et Hygiene. 1964. Vol. 22. P. 1.
- Baltazard M., Karimi Y., Eftekhari M. et al. // Bull. Soc. Pathol. Exot. 1963. Vol. 56, No. 6. P. 1230.
- Barbour A. G. // British Medical Bulletin. 1998. Vol. 54. P. 647.
- Barbour A. G., Hayes S. F. // Microbiological Reviews. 1986. 50. P. 381.
- Black W. C., Piesman J. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1994. Vol. 91. P. 1034.
- Burgdorfer W., Barbour, Hayes S. F. et al. // Science. 1982. Vol. 216. P. 1317.
- Carter C. J., Bergstrom S., Norris S. J. et al. // Infect. Immun. 1994. Vol. 62. P. 2792.
- Chen Cuo-shi, Xu Huan-zhang, He Hua // Clin. J. Epidemiol. 1989. Vol. 10, No. 3. P. 353.
- Černý Vol. // Журн. гигиены, эпидемиол., микробиол., иммунол. (Прага), 1966, No. 10. С. 102.
- Childs J., Shope R. E., Fish D. et al. // Emerging Infectious Diseases. 1998. Vol. 4, No. 2. P. 453.
- Chu C. Y., Liu W., Jang B. C. et al. // J. Clin. Microbiol. 2008. Vol. 46. P. 3130.
- Clayton R. A., Sutton G., Hinkle P. S. et al. // Intern. J. Syst. Bacteriol. 1995. Vol. 45, No. 3. P. 595.
- Cutler S. J., Bonilla E. M., and Singh R. J. // Emerg. Inf. Dis. 2010. 16. P. 1076.
- Cutler S. J., Scott J. C. and Wright D. J. M. // Molecular Biology of Spirochetes. IOS Press. Amsterdam et al. cit. 2006. P. 159.
- Elton Ch.S. The Ecology of Invasions by Animals and Plants. Methuen and Co LTD. L. 1958. 181 p.
- Euzeby J. P. // ReVol. Med. Vet. 2003. Vol. 154. No. 4. P. 259.
- Farmer P. // Emerging Infectious Diseases. 1996. 2. P. 259.
- Filippova N. A. // Modern Acarology. Academia. Prague. 1991. Vol. 1. P. 109.
- Fuente J. de la // Experiment. Appl. Acarol. 2003. Vol. 29. P. 331.

- Fukunaga M., Hamase A. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33, No. 9. P. 2415.
- Fukunaga M., Hamase A., Okada K., Nakao M. // Microbiol. Immunol. 1996. Vol. 40. P. 877.
- Fukunaga M., Sohnaka M., Yanagihara Y. // J. Gen. Microbiol. 1993. Vol. 139. P. 1141.
- Fukunaga M., Takahashi Y., Tsuruta Y. et al. // Intern. J. Syst. Bacteriol. 1995. Vol. 45, No. 4. P. 804.
- Fukunaga M., Yanagihara Y., Sohnaka M. et al. // J. Gen. Microbiol. 1992. Vol. 138. P. 171.
- Gould A. E., Moss S. R. and Turner S. L. // Arch. Virol. 2004. Suppl. 18. P. 65.
- Gould A. E., de Lamballerie X., Zanutto P. M. A., Holmes E. C. // Evolution, epidemiology and dispersal of flaviviruses revealed by molecular phylogenies. AdVol. Virus Res. 2001. Vol. 57. P. 71.
- Gould A. E., Zanutto P. M. de A., Holmes E. C. // Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases. Paris, 1997. P. 51.
- Gubler D. J. // Emerging Infectious Diseases. 1998. Vol. 4, No. 2. P. 442.
- Hensyl W. R. // Shorter Bergey's Manual of determinative Bacteriology. Baltimore, Maryland. 1994. P. 27.
- Heymann D. and Dzenowagis, J. // Bull. WHO. 1998. 76. P. 545.
- Hoogstraal H. // Bull. Entomol. Soc. Amer. 1986. Vol. 32, No. 1. P. 22.
- Hubalek Z., Rudolf I. // Parasitol. Res. 2012. Vol. 111. P. 9.
- Kahl O., Ramelow C., Beziat P. et al. // The Second International Conference on Tick-borne Pathogens at the Host-Vector Interface: a Global Perspective. Proceedings and Abstracts. S. L. The Conference. 1998. P. 204.
- Kawabata H., Toshihito H., Yamada K. et al. // Microbiol. Immunol. 1994. Vol. 38, No. 8. P. 591.
- Keirans J. E., Oliver J. H., Needham G. R. // Proc. First Intern. Conf. on Tick-Borne Pathogens at the Host-Vector Interface: an Agenda for Research. St. Paul. 1992. P. 302.
- Klompen J. S. H., Oliver J. H. // Systematic Entomology. 1993. Vol. 18. P. 313.
- Korenberg E. I. // Zoonoses Control. GKNT. Moscow. 1982. Vol. 1. P. 36.
- Korenberg E. I. // Soviet Scientific Reviews. F. Physiology. Genetics. Biology. Herwood. 1989. Academic Publishers GmbH. Vol. 3. P. 301.
- Korenberg E. I. // Present Status of Lyme Disease and Biology of Lyme Borrelia. Kanzanji, Hamammatsu, Shizuoka. 1994. P. 17.
- Korenberg E. I. // Proceedings of the 3rd International Conference «Ticks and Tick-Borne Pathogens into 21st Century». Bratislava. 2000. P. 43.
- Korenberg E. I., Nefedova Vol. Vol., Romanenko Vol. N., and Gorelova N. B. // Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2010. 10 (5). P. 453.
- Lane R. S., Manweller S. A. // J. Med. Entomol. 1988. Vol. 25. P. 172.
- Lane R. S., Piesman J., Burgdorfer W. // Fnn. ReVol. Entomol. 1991. Vol. 36. P. 587.
- Lattin G. // Grundriss der Zoogeographie. Jena-Stuttgart, 1967. 602 p.
- Lederberg J., Shope R. E. and Oaks S. C. J. (eds) // Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United State. National Academy Press. Washington. 1992. 380 p.
- Li M., Masuzawa T., Takada N. et al. // Appl. Environ. Microbiol. 1998. P. 2705.
- Litvin Vol. Yu. // Zoonoses Control. GKNT. Moscow., 1982. Vol. 1. P. 44.
- Marconi R. T., Garon C. F. // J. Bacteriol. 1992. Vol. 174, No 1. P. 241.
- Margolis N., Hogan D., Schwan C. J. W., Rosa P. A. // Gene. 1994. Vol. 143. P. 105.
- Margos G., Vollmer S. A., Ogden N. H., Fish D. // Infect. Gen. Evolution. 2011. 11. P. 1545.
- Maqsuzava T., Takada N., Kudeken M. et al. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. Vol. 51 (Pt 5). P. 1817.
- Meslin, F.X. // Med. Trop. 1997. Vol. 57. P. 7.
- Mobius J. M. // Mobius on Emerging Markets. F. T. Pitman Publishing. London. 1996. 364 p.
- Morse S. S. // Emerging Infectious Diseases. 1995. 1. P. 7.
- Murphy A. // Emerging Infectious Diseases. 1998. 4. P. 429.
- Nicolle Ch., Anderson C. // Bull. Inst. Pasteur. 1927. Vol. 25. P. 657.
- Oliver J. H., Owsley M. R., Hutchenson H. J. et al. // J. Med. Entomol. 1993. Vol. 30. P. 54.
- Postic D., Assous M. Vol., Grimont P. A. D., Baranton G. // Intern. J. Syst. Bacteriol. 1994. Vol. 44, No. 4. P. 743.
- Řeháček J. and Tarasevich I. Vol. // Acari-Borne Rickettsiae & Rickettsioses in Eurasia. Veda Pub. House Slovak Acad. Sci. Bratislava. 1988. 343 p.

- Rodhain F., Hannoun C. // *ReVol. epidemiol. et santé publique*. 1979. Vol. 27, No. 5–6. P. 399.
- Rosicky B., Daniel M. a kol. // *Lekarska entomologie a zivotni prostredi*. Academia. Praha. 1989. 437 p.
- Smith P.G., Morrow R. H. (eds.) // *Methods for Field Trials of Interventions against Tropical Diseases*. Oxford University Press. N. Y. 1991. 326 p.
- Sonenshine D. E. // *Biology of Ticks*. Vol. 1. Oxford UniVol. Press. New York, Oxford. 1991. 412 p.
- Spielman A., Telford S. R. III, Rich S. M. // *Programme and Abst. of the First Intern. Congr. of Vector Ecology*. San Diego. 1993. P. 36.
- Takada N., Ishiguro F., Fujita. H. et al. // *J. Parasitol.* 1998. Vol. 84. P. 499.
- Telford III, S.R. // *Infectious Disease Clinics of North America*. 1991. 5 (1). P. 7.
- Telford III S.R., Goethert H.K // *Parasitology*. 2004. Vol. 129. P. 301.
- Tkachenko E., Dekonenko A., Ivanov A. et al., // *Hantaviral and Arenal Diseases*. Elsevier SAS. L. 1999. P. 63.
- White D. S., Morse D. L. (eds.) // *West Nile Virus. Detection, Surveillance, and Control*. The N. Y. Acad. Sci. N.Y. 2001. 374 p.
- Welsh J., Pretzman Ch., Posic D. et al. // *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 1992. Vol. 42, No. 3. P. 370.
- Wesson D. M., McLain D.K., Oliver J. H. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. P. 10221.
- Wilske B., Anderson J.F. Baranton G. et al. // *Scand. J. Infect. Dis*. 1991. Vol. 77. P. 108.
- Wilson M. E. // *Emerging Infectious Diseases*. 1995. 1. P. 39.
- Wilson M. E. // *Emerging Infectious Diseases*. 1999. 5. P. 308.
- Winch P. // *Jornal of Vector Ecology*. 1998. 23. P. 47.
- Yablokov A. V. *Population Biology. Progress and Problems of Studies on Natural Populations*. MIR Publusers. M. 1986. 303 p.
- Zanotto P. M. de A., Gao G. F., Gritsun T. et al. // *Virology*. 1995. Vol. 210. P. 152.
- Zanotto P. M., Gibbs M. J., Gould E. A., Holmes E. C. // *J. Virol.* 1996. 70. P. 6083.
- Zanotto P. M. A, Gould E. A., Gao G. F. et al. // *Hroc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1996a. 93. P. 548

2. Клещевой энцефалит (КЭ)

2.1. Определение. Название нозологической формы.

Краткая историческая справка

Определение. Клещевой энцефалит (КЭ) — острая вирусная природноочаговая трансмиссивная инфекция, возбудитель которой передается главным образом иксодовыми клещами; поражает преимущественно центральную нервную систему и отличается полиморфизмом клинического течения.

Название нозологической формы. Заболевание, этиология которого была раскрыта, получило название «весенний (весенне-летний) или дальневосточный эндемический клещевой энцефалит» (Зильбер, 1939, 1957). В нем отразилось стремление первооткрывателей максимально полно отграничить эту новую нозологическую форму от осеннего комариного или японского энцефалита. Кроме того, сначала полагали, что КЭ эндемичен для глухих таежных районов Дальнего Востока. Однако уже в предвоенные годы заболевание было выявлено в Западной Сибири, на Урале и в Европейской части страны (Чумаков, Зайтленок, 1939). В связи с появлением новых данных о возбудителе, его распространении, эпидемиологии и особенностях клинических проявлений заболевания в разных странах возникали и его синонимные названия: весенне-летний менингоэнцефалит, двухволновый менингоэнцефалит, центрально-европейский энцефалит, дальневосточный энцефалит, русский весенне-летний энцефалит, двухволновая молочная лихорадка и др. (Жданов, 1955; Коренберг и др., 2007; Nuttall, 2011). Однако довольно скоро из первоначального названия этой нейроинфекции отпали неверные и избыточные определения, и уже более 70 лет она известна во всем мире как «клещевой энцефалит». Так она именуется в посвященных ей отечественных монографиях и обзорах, включая принадлежащие участникам первых дальневосточных экспедиций (Павловский, 1947, 1960; Панов, 1956; Петрищева, 1958; Шаповал, 1961, 1976, 1980; Смородинцев, Дубов, 1986) и ряда других специалистов (Карпов, Федоров, 1963, 1969; Иванова, 1969; Кучерук и др., 1969; Погодина и др.,

1986; Иерусалимский, 2001; Злобин и др., 2003; Леонова, 2009 и др.), в современных справочниках, руководствах и учебниках (Беляков, Яфаев, 1989; Львов и др., 1989; Покровский, 1993; Черкасский, 2002; Покровский и др., 2003; Nuttall, 2011 и др.), в Международной классификации болезней (пп. А.84.0; А84.1), в официальной форме статистической отчетности по инфекционным заболеваниям, во всех прежних методических указаниях и других научных и административных документах и публикациях. Именно это название нозоформы, как известно, употребляется в англоязычной научной литературе, включая издания ВОЗ, и в переводе выглядит как Tick-borne Encephalitis (Blaškovič and others, 1967; Sonenshine and Mather, 1994; Oschmann et al., 1999; <http://www.tbe-info.com/>). На немецком языке оно звучит как der Zeckenencephalitis (Libíková, 1969), на чешском — klišťová encefalitida (Rosický, Daniel a kol., 1989).

Такой подробный комментарий объясняется тем, что в последние годы, начиная примерно с 2007 г. (Онищенко и др., 2007), сделана попытка без каких-либо обоснований и рекомендаций научного сообщества (конференций, проблемных комиссий, публикаций авторитетных ученых и др.) чисто административным путем заменить устоявшееся название «клещевой энцефалит» на «клещевой *вирусный* энцефалит». Это можно было бы понять, если бы существовало заболевание со словами КЭ в названии, но какой-то другой (не вирусной) этиологии. Разумеется, дело не только в необходимости бережного отношения к наследию многих выдающихся ученых. Создав такой прецедент, можно запутать всю номенклатуру инфекционных заболеваний: почему бы не переименовать ГЛПС, например, в геморрагическую вирусную лихорадку с почечным синдромом (ГВЛПС), бешенство в лиссавирусное бешенство, туляремию в бактериальную туляремию и т.д.

Последние (2008 г.) санитарно-эпидемиологические правила, касающиеся профилактики КЭ, названы: «Профилактика клещевого вирусного энцефалита». Между тем, в Постановлении Главного государственного санитарного врача РФ от 07.03.2008 № 19 четко сформулировано: «ПОСТАНОВЛЯЮ: 1. Утвердить санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.3.2352–08 — «Профилактика клещевого энцефалита (приложение)». Таким образом оказалось, что СП с официально утвержденным названием не существуют, а документ, приложенный к Постановлению, с формальных позиций не имеет юридической силы. Тем не менее, им обязаны руководствоваться сотрудники санитарно-эпидемиологической службы. Видимо, поэтому словосочетание «клещевой вирусный энцефалит» содержит названия многих сообщений по этой инфекции от работников Роспотребнадзора на последнем форуме Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Материалы, 2012). Однако вопросы номенклатуры инфекционных болезней решаются, как известно, отнюдь не административным путем.

Краткая историческая справка. Открытием и изучением КЭ по праву гордится отечественная медико-биологическая наука. Ему посвящено по меньшей мере около 5 тыс. отечественных публикаций, среди которых несколько десят-

ков обзоров и монографий, включая специальные об истории изучения этой инфекции. Для понимания подлинной истории легендарного периода открытия вируса КЭ и первых героических шагов его изучения, замалчивавшихся или искажавшихся многие годы, особенно важное значение имеют свидетельства Л. А. Зильбера (1957), а также ценнейшие материалы и документы, которые содержит книга Л. Л. Киселева и Е. С. Левиной (2005), два мемориальных сборника (Погодина, 2001; Михайлов, Погодина, 2009) и статья В. В. Погодиной (2007). В рамках данной книги этот обширный материал может быть представлен лишь чрезвычайно конспективно. Далее кратко изложены лишь наиболее важные вехи 75-летней истории КЭ в нашей стране.



Рис. 2.1. Лев Александрович Зильбер (1894–1966) по возвращении из дальневосточной экспедиции (сентябрь 1937 г.)

Ретроспективно различные клинические проявления КЭ описаны у пациентов, заболевших на Дальнем Востоке, в Западной Сибири и Приуралье в конце XIX–начале XX веков. Это дало основание полагать, что «...заболевания КЭ имели место в различных областях СССР, а также и за рубежом уже в далеком прошлом» (Левкович и др., 1967, С. 170). Начиная с 1932 г., особенно в 1934–1936 гг., на Дальнем Востоке среди лесозаготовителей появились вспышки нейроинфекции, которую чаще всего диагностировали как токсический грипп или энцефалит японского типа. Специальная бригада врачей (А. Г. Панов, А. Н. Шаповал, Д. А. Краснов) сделала первое клинико-эпидемиологическое описание болезни. Были предприняты безрезультатные попытки изолировать ее возбудителя. В 1937 г. для изучения этих неясных заболеваний на Дальний Восток была направлена экспедиция под руководством профессора Л. А. Зильбера (рис. 2.1). В состав экспедиции входили вирусологи Е. Н. Левкович, М. П. Чумаков, А. К. Шеболдаева, А. К. Шубладзе, эпидемиологи Т. М. Сафонова и В. Л. Ольшевская, патологоанатом А. Г. Кестнер и сотрудники Е. Н. Павловского: паразитологи А. В. Гуцевич, А. С. Мончадский, А. Н. Скрынник и микробиолог Н. В. Рыжов. На месте к работе экспедиции подключились клиницисты З. И. Финкель, А. Г. Панов, А. Н. Шаповал, микробиологи В. Д. Соловьев и В. Е. Коростелев, а также сотрудник В. Н. Беклемишева — паразитолог В. С. Миронов. В кратчайшие сроки экспедицией были установлены все основные закономерности эпидемиологии заболевания (строгая весенне-летняя сезонность, связь с тайгой, отсутствие контагиозности, вероятный перенос возбудителя — иксодовый клещ — *Ixodes persulcatus*). Как подчеркнул позднее Л. А. Зильбер (1957), именно эпидемиологические данные позволили дифференцировать наблюдавшийся энцефалит от японского и американского и выделить его в самостоятельную нозологическую форму. Была установлена этиология этого энцефалита, изучена его клиника, патологическая анатомия, гистопатология и выделено 25 штаммов неизвестного ранее ви-

руса (Зильбер, 1939). Уже 20 августа 1937 г. основные результаты работы экспедиции заслушало специальное совещание, решение которого утвердил Наркомздрав СССР, а 2 октября 1937 г. был издан специальный приказ (№ 1010), который на основании результатов, полученных первой экспедицией, предусматривал проведение целенаправленных профилактических мероприятий. Ее успех по ряду принципиальных направлений был развит экспедициями и исследованиями двух последующих лет под руководством Е. Н. Павловского (1938 г.) и А. А. Смородинцева (1939 г.), в которых, кроме многих уже перечисленных ученых, участвовали Н. В. Каган, П. А. Петрищева, Б. И. Померанцев, Н. Л. Данковский и др. В первые 3–4 года после открытия КЭ осуществлены основополагающие исследования по его этиологии, биологии возбудителя, патогенезу и патоморфологии, клинике, эпидемиологии и эпизоотологии (Коренберг, 2003).

Уже к концу 1938 г. в отделе вирусов Института экспериментальной медицины им. А. М. Горького создана первая экспериментальная инактивированная культуральная вакцина против КЭ (Каган, 1939), которая затем была доработана и в 1939 г. испытана на добровольцах, а также в эпидемиологическом опыте на Дальнем Востоке (Н. В. Каган, Е. Н. Левкович, А. А. Смородинцев). В 1937–1938 гг. в экспериментах на лабораторных животных показана принципиальная возможность создания пассивного иммунитета к вирусу путем введения иммунной сыворотки (Чумаков, 1940).

В 1948 г. была введена официальная регистрация заболеваний КЭ. В начале 50-х годов описаны как самостоятельные нозологические формы: двухволновый менингоэнцефалит (А. А. Смородинцев, С. Н. Давиденков и др.) и двухволновая молочная лихорадка (М. П. Чумаков, С. Г. Дроздов). В ходе дискуссии было высказано мнение, что это — патогенетические и этиологические варианты единой нозологической формы — КЭ (Е. Н. Левкович, А. Н. Шаповал, О. В. Бароян, В. М. Жданов и др.). С 1956 г. подобные алиментарные заболевания начали регистрироваться как КЭ. Тем не менее, некоторые исследователи (Gritsun et al., 2003) продолжают подчеркивать этиологические и клинические отличия двухволновой молочной лихорадки (Biphasic milk fever) от двухволнового клещевого энцефалита (Biphasic TBE).

В 1951–1952 гг. проведены первые полевые и лабораторные испытания хлорированных углеводов ГХЦГ и ДДТ для борьбы с переносчиком КЭ, которые показали, что эти пестициды обладают высокой акарицидной активностью (А. А. Шипова, Н. Н. Горчаковская). Был разработан метод прямого истребления клещей, и в 1954 г. под руководством В. Н. Беклемишева созданы (Н. Н. Горчаковская, Е. Н. Левкович) официальные методические указания по организации противоклещевой профилактики (Горчаковская, 1965; раздел 8.3.1).

В 1957 г. в МЗ РСФСР (Л. М. Иванова, И. А. Тарабухин) была разработана схема, по которой областные СЭС ежегодно представляли конъюнктурный обзор по КЭ, что в дальнейшем позволило обобщить материалы по его эпидемиологии и оценить меры профилактики (Иванова, 1969).

В конце 50-х–середине 60-х годов изучена возможность культивирования и накопления вируса КЭ в культурах ткани (Е. Н. Левкович, О. Г. Анджапаридзе, П. С. Андонов, Г. Д. Засухина, Л. Г. Карпович и др.); эти исследования представлены в монографии Е. Н. Левкович и др. (1967). Были получены первые экспериментальные обоснования и сформулированы теоретические основы возможности создания культуральных вакцин против КЭ (Е. Н. Левкович, Г. Д. Засухина, А. К. Шубладзе, Е. Н. Бычкова, В. И. Ильенко), разработана лабораторная модель получения эффективной инактивированной культуральной вакцины (Левкович, Засухина, 1960), а также заводской технологический регламент для ее крупномасштабного производства (Чумаков, Гагарина и др., 1963). В 1961–1964 гг. под руководством М. П. Чумакова в Кемеровской области в контролируемом эпидемиологическом опыте были проведены широкие испытания культуральной вакцины против КЭ, созданной под его же руководством (раздел 8.2.1). В 60-е годы были экспериментально отработаны и предложены для практического использования ряд методов вирусологической и серологической диагностики КЭ (Сарманова, 1965; Левкович и др., 1967; и др.).

Определяющее значение для познания эпизоотологии КЭ имело учение Е. Н. Павловского о природной очаговости болезней (раздел 1.2) и развитые В. Н. Беклемишевым (1956, 1959) популяционно-биоценотические подходы к изучению природных очагов как сложных трехчленных паразитарных систем. Благодаря обширным исследованиям в этой области, которые многие годы проводили крупные коллективы ряда научно-исследовательских институтов (Л. А. Верета, С. А. Шилова, В. В. Кучерук, Л. П. Никифоров, Р. Л. Наумов, Э. И. Коренберг, Н. М. Окулова, Г. Н. Леонова и др.), стало ясно, что в природных очагах КЭ происходят колебания интенсивности эпизоотии, и она существенно меняется по годам.

В 1967 г. была приготовлена живая вакцина против КЭ, для которой использовался штамм вируса «Еланцев», изолированный из крови пациента в Тюменской области, близкий к штамму ТР-21 вируса Лангат. Штамм «Еланцев» обладал высокой иммуногенностью и по результатам первоначальных исследований казался апатогенным. После испытания вакцины на лабораторных животных и добровольцах в 1969 г. началось ее испытание в ограниченном, а в 1970 г. — в расширенном эпидемиологическом опыте, в ходе которого в Свердловской и Пермской областях было привито почти 29 тыс. человек (Дубов, 1971). В результате массовой иммунизации живой вакциной, охватившей в 1970 г. в 19 краях и областях РСФСР 649,5 тыс. человек, у 35 привитых возникли поствакцинальные осложнения, вызванные ее введением. Дальнейшее практическое использование препарата было прекращено (Сморозинцев, Дубов, 1986).

В том же 1967 г. для серопрофилактики КЭ были апробированы сыворотки крови естественно иммунизированных людей, а затем организовано производство титрованного специфического иммуноглобулина из человеческой крови (Л. А. Верета и др.).

В 80-х годах разработан отечественный вариант концентрированной, очищенной лиофилизированной вакцины (Эльберт и др., 1985).

Последние десятилетия ознаменовались широким использованием молекулярно-биологических методов для изучения возбудителя и его внутривидового разнообразия (раздел 2.2.2) для индикации природных очагов и лабораторной диагностики КЭ. Разработаны принципиально новые способы индивидуальной защиты человека от укусов клещей, применение которых способно в недалекой перспективе произвести своеобразный «переворот» в общей стратегии профилактики КЭ и других инфекций, передающихся иксодовыми клещами (раздел 8).

За пределами нашей страны вирус КЭ раньше всего был обнаружен и изолирован в бывшей Чехословакии (Gallia et al., 1948). В Венгрии это произошло в 1952 г. (Grinschgl, Richling, 1957), в 1953 г. — в Австрии (Moritsch, Krausler, 1959), в 1954 г. — в Польше, в 1955 г. — в Югославии (Moritsch, Krausler, 1957), в 1957 г. — в Румынии, в 1958 г. — в Болгарии и Швеции (Blaskovic, 1958), в 1959 г. — в Финляндии (Saikku, 1975), в 1960 г. — на территории бывшей ГДР (Ackermann et al., 1968), в 1963 г. — в Дании (Freundt, 1963), в 1969 — во Франции и Швейцарии (Riedl et al., 1973) и только в 1974 г. — в ФРГ (Rehse-Kupper et al., 1976), в 1976 — в Норвегии (Hannoun, 1980) и, наконец, в 1978 г. — в Италии (Verani et al., 1979). Таким образом, принимая во внимание перемены, которые произошли на политической карте Европы, можно считать, что природные очаги КЭ существуют на территориях минимум 18–20 ее стран. Между тем, к началу 1969 г. библиография отечественных публикаций по КЭ уже насчитывала 2700 названий (Окулова, 1972). За прошедшие с тех пор 45 лет она, по-видимому, увеличилась как минимум вдвое. К сожалению, этот колоссальный массив научной информации по всем аспектам проблемы КЭ, включая раскрытие этиологии заболевания и серию эпохальных работ первооткрывателей, до сих пор остается почти неизвестным и невостребованным даже в обзорах зарубежных исследователей, не владеющих русским языком (Dumpis et al., 1999 и др.). Так, в обширный список литературы, использованной в сравнительно недавнем американском обзоре по КЭ, который опубликован в солидном научном журнале, включены только 6 работ российских исследователей, причем 4 из них на английском языке (Mansfield et al., 2009). Это формирует у ряда западных ученых весьма односторонние представления о состоянии исследований в области КЭ в целом. Например, по некоторым публикациям складывается впечатление, что создание вакцин против КЭ (Barrett et al., 2003) и изучение структуры природных очагов (Kunz, 1992) осуществлено исключительно в нескольких странах Центральной Европы. В этом повинны, разумеется, не зарубежные, а российские исследователи, которые даже после снятия «железного занавеса» не приложили достаточных усилий для пропаганды подлинной полной истории изучения КЭ и достижений отечественной науки в этой области.

2.2. Возбудитель

2.2.1. Таксономия. Общая характеристика вируса

Этиология КЭ установлена в 1937 г. на Дальнем Востоке Л. А. Зильбером с сотрудниками (раздел 2.1). Открытый ими вирус, как и возбудители шотландского энцефалита овец, омской геморрагической лихорадки, киасанурской лесной болезни, а также вирусы Лангат, Негеши и Повассан, входит в комплекс вирусов клещевого энцефалита, выделенный позднее на основании тесных антигенных связей между ними. Это — РНК содержащий вирус, который имеет видовое название *ixodetis* и таксономически относится к роду *Flavivirus* (*Ixodivirus*) семейства *Flaviviridae* (Heinz, 2003; Fauquet et al., 2005; Локтев, 2011; Dobler et al., 2012). Некоторые, главным образом западные, вирусологи различают внутри этого вида подвиды и варианты вируса КЭ (табл. 2.1; по материалам книги Hubálek, Halouzka, 1996).

Таблица 2.1. Внутривидовые таксоны вируса *Flavivirus (Ixodivirus) ixodetis*

Русское и английское название вирусов	Подвидовое название (<i>ssp.</i>)	Название варианта (<i>var.</i>)
Клещевого (весенне-летнего) энцефалита Russian spring-summer encephalitis virus	orientalis	
Негиши Negishi virus	orientalis	negishi
Центрально-европейского клещевого энцефалита Central European encephalitis virus	occidentalis	medieuropaeus
Шотландского энцефаломелита (овец) Louping ill virus	occidentalis	scoticus

Эти представления остаются в достаточной мере дискуссионными, поскольку нет твердых критериев для такой дифференциации. Тем не менее, в 50–60-е гг. большинство вирусологов признавали наличие восточного и западного вариантов КЭ; одни (Л. А. Зильбер, А. А. Смородинцев, В. М. Жданов, В. И. Ильенко) считали их возбудителей разными видами, а заболевания, соответственно, различными нозологическими формами (Жданов, 1955), а другие (М. П. Чумаков, Е. Н. Левкович, В. В. Погодина) — двумя антигенно очень близкими типами (субтипами) одного вида вируса (Кларк, 1964; Чумаков, 1965). Л. А. Зильбер (1957) считал несомненным существование вариантов вируса КЭ, крайним из которых, с одной стороны, является вирус шотландского энцефалита (louping ill), обладающий малой патогенностью для человека и слабым сродством к нервным клеткам, а с другой — высокопатогенный для человека вирус дальневосточного энцефалита с резко выраженным сродством к тканям центральной нервной системы, хотя он и возражал против объединения в одну нозологическую форму вызываемые ими заболевания. Позднее был продемонстри-

рован клинальный характер изменчивости вируса клещевого энцефалита внутри его обширного ареала (Zanotto and all, 1995; Gould et al., 1997), что подтверждает точку зрения (Кучерук и др., 1969; Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981; Korenberg and Kovalevskii, 1999; Карганова, 2008), согласно которой с общебиологических позиций вирус КЭ — это широко распространенный политипический вид, которому свойственна значительная географическая и внутривидовая изменчивость по ряду генотипических и фенотипических признаков.

Однако разные точки зрения по этому поводу сохранились практически до настоящего времени (Черкасский, 1994; Grešiková, Kaluzová, 1997; Telford III, Foppa, 2000; Иерусалимский, 2001; Nattall, 2011; МКБ-10 [пп. А.84.0; А84.1]). Так, В. И. Вотяков с соавторами (2002, С. 160) придают трем основным генотипам вируса КЭ (см. раздел 2.2.2) видовой таксономический статус и предлагают «... в состав комплекса КЭ включить как самостоятельные вирусы: 1) вирус дальневосточного клещевого энцефалита (прототипный штамм Софьин); 2) вирус центрально-европейского (западного) клещевого менингоэнцефалита (прототипный штамм *Neudorf*, 256); 3) вирус урало-сибирского (евразийского клещевого менингоэнцефалита (прототипные штаммы Лесопарк-11, Айна/1448)», отдавая «...себе отчет в том, что эти предложения могут вызвать определенные возражения и контраргументы». Но дело даже не в контраргументах. Авторы сами не привели убедительные аргументы в пользу своего предложения, за исключением приуроченности основных генотипов вируса к «...определенной весьма обширной территории...» (С. 156), своеобразия ими «...вызываемых клинических проявлений у человека...», особенностей антигенных свойств и молекулярно-генетической структуры (С. 141, 160). Но генотипы любого вида — это его внутривидовые таксоны. Они потому и называются генотипами, что отличаются друг от друга некоторым своеобразием структуры генома. Степень этих различий зависит, как известно, от размера и локализации исследованного локуса и сама по себе не может быть достаточным обоснованием видовой самостоятельности вирусов, даже если она, как сказано на С. 160, «...сопоставима с различиями на видовом уровне между некоторыми представителями комплекса вирусов КЭ» (см. раздел. 7.4.4). Большинство других аргументов в пользу видового статуса генотипов вируса КЭ не подтвердилось. Нет никаких сомнений в том, что вирус КЭ, как всякий вид, обладающий громадным ареалом, должен иметь и действительно имеет внутривидовую таксономическую структуру (раздел 2.2.2), выражающуюся в данном случае в наличии ряда генотипов. Именно так (а не самостоятельными видами) их и называют авторы в разделах 4.5, 4.6 и др. цитированной монографии, что свидетельствует об их неуверенности и двойственном отношении к своему собственному предложению.

2.2.2. Внутривидовое разнообразие

В 60-е годы прошлого века были получены обширные данные, свидетельствующие о естественной и экспериментальной изменчивости штаммов вируса КЭ

по их различным фенотипическим проявлениям: первичным инфекционным титрам у изолированных штаммов, степени их патогенности для лабораторных животных и вызываемой у них вирусемии, цитопатогенной активности и др. (Левкович и др., 1987).

Были выделены пять антигенных вариантов (или антигенных подтипов) вируса КЭ: дальневосточный, западный (центрально-европейский), Вергина, восточно-сибирский, урало-сибирский. Оказалось, что те или иные варианты строго не приурочены к определенным регионам, и встречаются не только в тех из них, по которым они названы, причем могут совместно циркулировать на сравнительно ограниченной территории (Погодина и др., 1986; Злобин, Горин, 1996; Вотяков и др., 2002). Кроме того, существуют штаммы, которые по своим антигенным особенностям не могут быть отнесены ни к одному из этих подтипов, поскольку обладают свойствами двух или нескольких из них. С общебиологических позиций представляется очевидным, что в связи с естественной гетерогенностью популяции вируса (Верета, 1983; Верета, Воробьева, 1990) как важнейшего «механизма», обеспечивающего ее существование, в одном природном очаге могут быть изолированы штаммы с более или менее выраженными антигенными отличиями. Именно поэтому «...очень сложно адекватно оценить и свести в единое целое результаты многочисленных работ, посвященных антигенной вариабельности вируса КЭ, а тем более попытаться нарисовать картину географического распространения антигенных субтипов в пределах его ареала в силу разнородности методических подходов и оценочных критериев разных исследователей» (Злобин, Горин, 1996, С. 23).

Возбудители, обладающие обширными ареалами, обычно имеют внутри вида несколько таксономических единиц подвидового уровня (генотипов, генетических подгрупп), различающихся по вариациям структуры определенных консервативных генов. Вирус клещевого энцефалита — не исключение из их числа. Так, на основании различий сиквенсов функционально значимого короткого участка гена E (160 п.н.), а в дальнейшем путем анализа вариабельных участков на протяжении всего вирусного генома и другими молекулярно-биологическими методами выделены шесть генотипов (подтипов) вируса КЭ (Ecker et al., 1999; Злобин и др., 2001, 2003, 2007; Demina et al., 2010). Три из них встречаются чаще остальных и довольно четко кластеризуются при анализе результатов секвенирования полноразмерных последовательностей соответствующих вирусов (Локтев и др., 2007). Их считают основными: дальневосточный (генотип 1), западный (или европейский) (генотип 2) и сибирский или урало-сибирский (генотип 3) (Ecker et al., 1999; Злобин и др., 2001, 2001a, 2007; Вотяков и др., 2002; Локтев, 2011). По опубликованным к концу 2011 г. данным, А. Н. Поповой составлена справочная карта и кадастр приведенных на ней географических пунктов, содержащий, в частности, информацию о числе генотипированных штаммов (первичных

изолятов) в каждом из них (рис. 2.2.). Она свидетельствует о том, что сегодняшние представления о географическом распространении генотипов и заключения по этому поводу (Вотяков и др., 2002; Kovalev et al., 2010) пока основаны на очень скромных фактических данных (небольшом и порой случайном числе исследованных изолятов). Но даже они подтверждают предположение (Коренберг, 2003; Korenberg, 2009) о том, что «основные» генотипы вируса КЭ или по крайней мере два из них встречаются во всем ареале, но их относительная частота в разных его частях не одинакова. Аналогичные соображения теперь высказывает ряд исследователей (Погодина и др., 2004; Погодина, 2005; Демина и др., 2007, 2009, 2011; Злобин и др., 2007; Верховина и др., 2008; Kovalev et al., 2010 и др.). Примечательно в этом отношении, что, с одной стороны, все три основных генотипа обнаружены в северо-западной части ареала КЭ (Jääskeläinen et al., 2010), а с другой — европейский генотип в Южной Корее (Kim et al., 2008; Yun et al., 2009). Географические названия генотипов вируса КЭ, как и его антигенных вариантов (см. выше), не отражают их строгой приуроченности к определенному региону. Они соответствуют лишь большей частоте встречаемости конкретного генотипа в том или ином регионе.

В состав четырех генотипов входят прототипные штаммы различных антигенных вариантов вируса (Злобин и др., 2001б; Вотяков и др., 2002, С. 144). С другой стороны, различные генотипы вируса КЭ сходны по антигенным свойствам и перекрестной протективности (Holzmann et al., 1992). Хотя поверхностный белок E

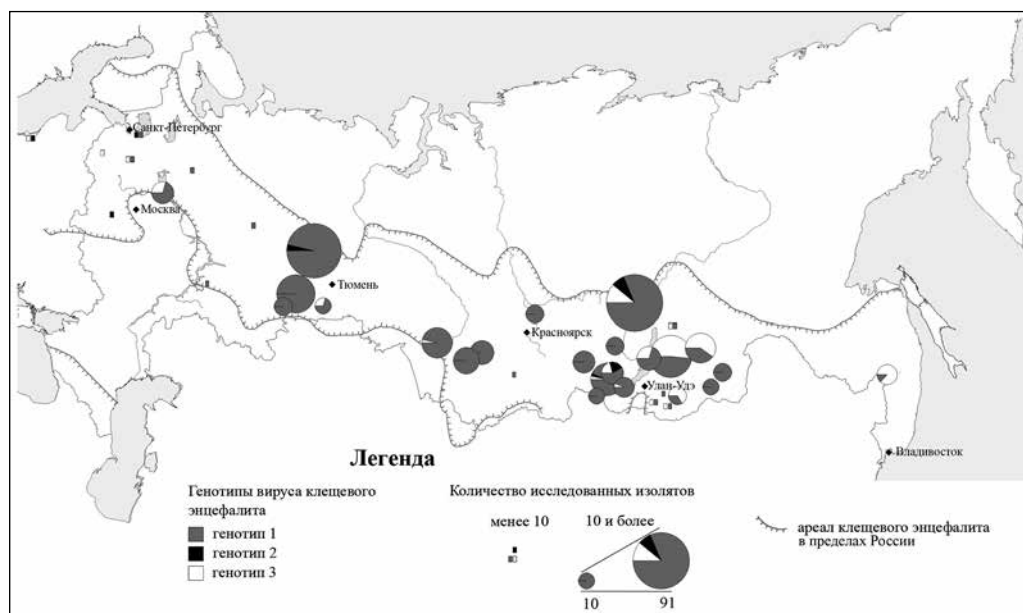


Рис. 2.2. Соотношение основных генотипов вируса клещевого энцефалита в различных частях его ареала (карта А.Н. Поповой, составленная по опубликованным данным).

является важным фактором вирулентности вируса КЭ (Holzmann et al., 1997), в целом она контролируется рядом генов и имеет многофакторный характер (Heinz, 2003). Они не отличаются тропизмом и патогенностью для человека. Различные подтипы вируса (по меньшей мере сибирский и дальневосточный) не отличаются по своему тропизму и патогенности для людей (Погодина, 2008). Каждый из них может вызвать целый спектр клинических проявлений КЭ (от инаппарантных до очаговых форм с летальным исходом), а также заболевание при алиментарном заражении через сырое молоко (Погодина и др., 2004, 2004а, 2007; Погодина, 2005; Злобин и др., 2007; Козлова и др., 2011). В одном природном очаге могут циркулировать разные генотипы вируса (Карганова и др., 2007; Карганова, 2008). «Микст-изоляты», включающие вирусы КЭ различных подтипов, выделены от одного клеща, из крови или мозга умерших больных (Погодина и др., 2007; Верховина, 2011). Совокупность этих данных, по сути дела, дискредитирует доводы в пользу видовой самостоятельности генотипов 1–3 (см. раздел 2.2.1). Как подчеркнула Г.Н. Леонова (2010, С. 192), «...все три субтипа вируса КЭ обуславливают единую нозоформу...», и с этой позицией трудно не согласиться.

Каждый из генотипов 4 и 5 изначально охарактеризован по одному штамму, а штамм Вергина, представлявший генотип 6, оказался очень близок к греческому (испанскому) энцефалиту коз и турецкому энцефалиту овец, принадлежность которых к вирусу КЭ не вполне ясна (Вотяков и др., 2002; Heinz, 2003; Локтев, 2011). Не вызывает сомнений, что дальнейшие исследования могут привести и уже привели (Демина и др., 2009; Локтев, 2011) к выявлению новых (пока неизвестных) генотипов вируса КЭ, а внутри них — разнообразных генетических вариантов (Ternovoi et al., 2007; Chausov et al., 2010), которые могут иметь внутривидовое таксономическое значение или свидетельствовать о внутривидовой адаптивной гетерогенности вирусной популяции (см. раздел 7.4.4).

Вирусная популяция конкретного очага КЭ (Цилинский, Львов, 1977), как и природная популяция возбудителя любого зооноза (Korenberg, 1989; Korenberg et al., 2006 и многие др.), весьма гетерогенна, причем ее генотипическая структура меняется в разные годы под влиянием множества биотических и абиотических факторов (Верета и др., 1983; Верета, Воробьева, 1990; Korenberg, Kovalevsky, 1994, 1999; Беликов и др., 2001; Вотяков и др., 2002; Casati et al., 2006; Карганова, 2008; Верховина и др., 2008; и др.). Поэтому судить об изменениях в генотипической структуре популяции вируса КЭ можно только на основании изучения большого числа изолятов, полученных на протяжении ряда лет в конкретном очаге путем рандомизации проб для изоляции вируса.

2.3. Распространение природных очагов

Возбудитель клещевого энцефалита — это типичный арбовирус умеренного пояса, который распространен преимущественно в границах ареалов его основных

переносчиков — таежного (*Ixodes persulcatus* Sulze) и лесного (*Ixodes ricinus* L.) клещей. Клещ *I. persulcatus* имеет обширный поясный бореальный евразийский ареал (рис. 2.3). Его большая часть находится в России, за пределы которой на запад этот вид распространен весьма ограниченно. Таежный клещ приурочен главным образом к различным вариантам тайги, но встречается и в некоторых других растительных формациях. В зависимости от степени континентальности климата его ареал (и, следовательно, ареал вируса КЭ) существенно смещается относительно зональных границ: в более мягких климатических условиях европейская часть ареала сильно смещена к северу (Чернов, 1975). На равнинных пространствах ареал охватывает по меньшей мере 6 зональных типов растительности: северную, среднюю и южную тайгу, широколиственно-хвойные и широколиственные леса, а также лесостепь (Давыдова, Лукин, 1969). Это разнообразие увеличивает высотная поясность горных районов. В целом распределение природных очагов определяется суммой температур за период с устойчивой среднесуточной температурой выше 5 °С не менее 1600° при показателе увлажнения в условиях различных регионов от 0,15 до 0,60 и несколько больше (Коренберг, Ковалевский, 1985; Коренберг, Лебедева, 1985). Вместе с тем, в основе механизма синхронизации сложного жизненного цикла иксодовых клещей (см. раздел 2.4.2) с природными условиями лежит реакция на длину дня. Поэтому важна не сумма температур сама по себе, а общие условия, при которых клещи могут получать количество тепла, гарантирующее завершение определенного этапа развития в строго определенных сроки. Взаимодействие фото- и термопериодических (гигротермических) факторов в конечном счете и определяет границы ареала на их значительном протяжении.

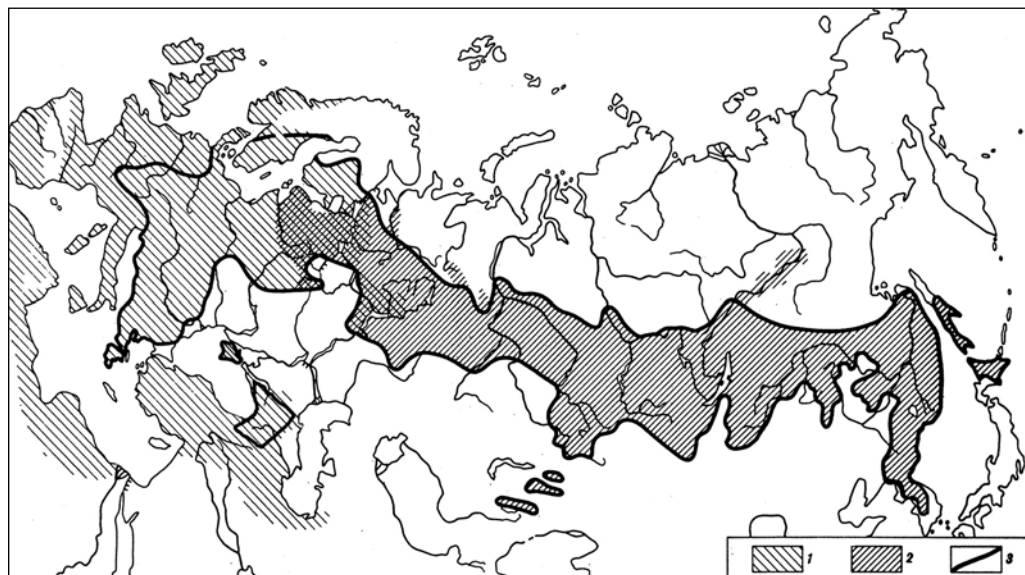


Рис. 2.3. Ареалы клещей: 1 – *I. ricinus*; 2 – *I. persulcatus*; 3 – вируса клещевого энцефалита (Коренберг, 1979 с добавлениями).

Ареал более теплолюбивого и в целом менее эвритопного клеща *I. ricinus* охватывает почти всю Западную, Центральную и Южную Европу, заходит сравнительно узкой изолированной полосой на северную часть Африканского континента и на Ближний Восток. Два других «пятна», сравнительно небольших по площади, расположены в Крыму и на Кавказе. Восточная часть области распространения *I. ricinus* лежит в пределах России, где он занимает обширную территорию от ее западных границ примерно до среднего течения Волги. Закономерности, определяющие распространение таежного клеща, описанные выше, в общей форме приложимы и к *I. ricinus*, разумеется, с учетом его несколько иных требований к условиям среды. Этот вид предпочитает умеренно гигрофильные и мезофильные широколиственные и смешанные леса, как равнинные, так и горные. По освещенным и более прогреваемым лесам и вырубкам местами заходит в европейские южнотаежные и даже среднетаежные леса (Филиппова, 1997). В пределах значительной части Европейской территории России, примерно от ее северо-запада до средней Волги [но не до Урала, как это преподносит J. Süß (2011)] в разном количественном соотношении могут одновременно встречаться оба основных переносчика (рис. 2.3). Границы ареалов двух основных переносчиков вируса в пределах территории бывшего Советского Союза подробно описаны (Филиппова, 1977; Коренберг, 1979, 1985).

Ареал КЭ простирается практически непрерывной полосой по южной части лесной зоны внетропической Евразии от Атлантического океана и Средиземного моря до Тихого океана, включая часть о. Сахалин и северную часть о. Хокайдо (Кучерук и др., 1969; Коренберг, 1979; Takashima et al., 1997; Bröker, 2002). На западе ареал вируса несколько «уже», чем распространение *I. ricinus*. Основная часть нозоареала находится в пределах России (рис. 2.2); кроме того, частично или полностью он охватывает территории 27 европейских и 7 азиатских стран (Nuttall, 2011; Süß, 2011). Распространение КЭ в отдельных зарубежных странах освещено в нескольких публикациях (Кучерук и др., 1969; Süß, 2003, 2011).

В соответствии с осуществленным районированием ареал клещевого энцефалита в целом включает 71 четко ограниченных очаговых регионов. Их названия и номера (табл. 2.2) соответствуют цифрам на карте (рис. 2.4). По принятой нами иерархии единиц районирования (см. раздел 1.2) очаговый регион ареала вируса КЭ может включать несколько классов очагов и вместе с тем входит в состав определенной группы очаговых регионов. Было обосновано существование 7 групп очаговых регионов: Центральноевропейско-Средиземноморская, Восточно-Европейская, Западносибирская, Казахстанско-Среднеазиатская, Среднесибирско-Забайкальская, Хинганско-Приамурская, VII — Притихоокеанская. Позднее по появившимся описаниям ТВЕ в Крыму и на северном Кавказе дополнительно была выделена VIII Крымско-Кавказская группа очаговых регионов (Korenberg and Kovalevskii, 1999). Для каждой группы характерно некоторое своеобразие природных очагов и их эпидемического проявления, которые описаны в отдельной монографии (Коренберг, Ковалевский, 1981).

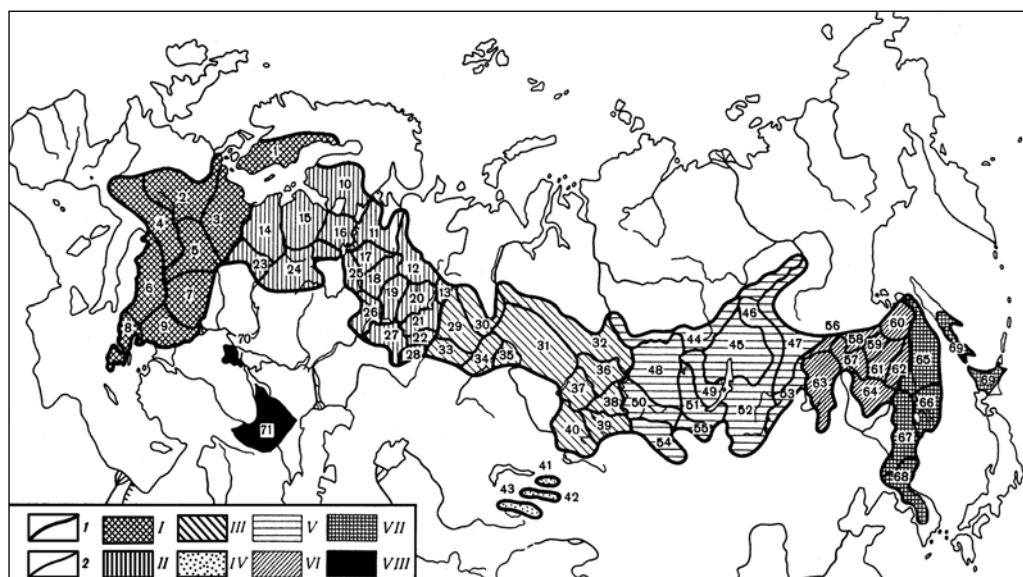


Рис. 2.4. Районирование ареала клещевого энцефалита
(Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1981 с добавлением).

Условные обозначения: 1 — граница ареала вируса; 2 — границы очаговых регионов I–VII — группы очаговых регионов: I — Центральноевропейско-Средиземноморская; II — Восточно-Европейская; III — Западносибирская; IV — Казахстанско-Среднеазиатская; V — Среднесибирско-Забайкальская; VI — Хинганско-Приамурская; VII — Притихоокеанская. VIII — Крымско-Кавказская. Цифры на карте (1–71) — номера очаговых регионов (см. табл. 2.2).

Таблица 2.2. Схема единиц районирования ареала вируса КЭ
(Коренберг, Ковалевский, 1981 с добавлениями)

Группы очаговых регионов	Очаговые регионы	Предполагаемое число классов очагов
I. Центральноевропейско-Средиземноморская	1. Южноскандинавский	2–3
	2. Везерско-Дунайский	не менее 2
	3. Одрский	не менее 2
	4. Альпийский	?
	5. Словацкий	?
	6. Приадриатический	не менее 3
	7. Карпатский	не менее 2
	8. Присредиземноморский	?
	9. Балканский	?
II. Восточно-Европейская	10. Карельский	3
	11. Онежско-Сухонский	2

Таблица 2.2. Продолжение

Группы очаговых регионов	Очаговые регионы	Предполагаемое число классов очагов
	12. Североуральский 13. Косьвинский 14. Неманско-Двинский 15. Двинско-Волховский 16. Валдайский 17. Костромской 18. Унжинско-Ветлужский 19. Кокшагский 20. Вятско-Камский 21. Уфимско-Чусовский 22. Бельский 23. Припятский 24. Смоленско-Московский 25. Мещерский 26. Сурский 27. Кинельский 28. Икский	2 3 не менее 3 3–4 не менее 4 2 3 3–4 3 4–5 4 не более 2 2–3 2 4 3–4 2
III. Западносибирская	29. Турский 30. Кондинский 31. Васюганский 32. Кетский 33. Исетский 34. Тоболо-Ишимский 35. Ишимо-Иртышский 36. Томско-Чулымский 37. Салаирский 38. Кузнецкий 39. Бийско-Абаканский 40. Алтайский	3–4 2 4–5 5 2 3–4 2 3–4 3–5 4–6 3–4 5–6
IVol. Казахстанско-Среднеазиатская	41. Джунгарский 42. Заилийский 43. Тянь-Шанский	1 1 1
Vol. Среднесибирско-Забайкальская	44. Верхнетунгусский 45. Северобайкальский	не более 3 не более 2

Таблица 2.2. Окончание

Группы очаговых регионов	Очаговые регионы	Предполагаемое число классов очагов
	46. Витимо-Олекминский 47. Верхнеолекминский 48. Приангарский 49. Западнобайкальский 50. Саянский 51. Хамар-Дабанский 52. Яблоновый 53. Ононско-Шилкинский 54. Тес-Хемский 55. Хубсугульско-Селенгинский	1–2 не более 2 2 2–3 3–4 3 не более 2 не более 2 2–3 2–3
VI. Хиганско-Приамурская	56. Верхнеамурский 57. Зейско-Буреинский 58. Удский 59. Туранский 60. Нижнеамурский 61. Баджальский 62. Среднеамурский 63. Большехинганский 64. Малохинганский	2–3 3–4 1 не более 2 2–3 2–3 3–4 2–3 2–3
VII. Притихоокеанская	65. Северо-Сихотэ-Алинский 66. Южно-Сихотэ-Алинский 67. Сунгарийский 68. Северокорейский 69. Сахалинский	5–6 3–4 3–4 не более 3 ?
VIII. Крымско-Кавказская	70. Крымский 71. Кавказско-Переднеазиатский	не более 2 2–3

Каждый очаговый регион объединяет, видимо, сотни отдельных природных очагов, характеризуется свойственным ему определенным сочетанием абиотических и биотических факторов, обуславливающих главные особенности эпизоотического состояния очагов, а также конкретным набором социальных факторов, от которых зависят показатели эпидемического проявления этих очагов. К наиболее важным из числа таких факторов относятся: зонально-ландшафтные условия и показатели континентальности климата, набор основных и дополнительных переносчиков вируса, видовой состав и обилие хозяев разных фаз развития клещей,

диапазон различий в продолжительности цикла развития основных переносчиков вируса и общий уровень их численности, а также плотность населения, особенности его расселения и контакта с природными очагами (Коренберг, Ковалевский, 1981). Очаговому региону, по всей видимости, свойственно и определенное соотношение частот встречаемости разных генетических и серологических вариантов вируса КЭ (раздел 2.2.2). Все очаговые регионы включают в совокупности не менее 20–30 тысяч природных очагов. Размер отдельного природного очага КЭ в различных географических условиях может составлять от нескольких единиц до нескольких сотен квадратных километров (Коренберг, 1979), причем каждый очаг функционирует как самостоятельная экосистема, относительно независимая даже от соседних аналогичных экосистем (Коренберг, 1979).

Разумеется, внутри каждого очагового региона и ареала ТВЕ в целом далеко не повсеместно встречаются основные переносчики вируса КЭ, с которыми преимущественно связано распространение его природных очагов. На значительной территории нет природных очагов, и они не могут возникнуть в связи с отсутствием необходимых ландшафтно-биоценологических условий для существования переносчиков и возбудителя. В таких местах отсутствует и реальная угроза заражения людей (рис. 2.5). Представленная на этом рисунке классификация территорий внутри ареала КЭ основана на обширных фактических данных, полученных при среднемасштабном картографировании размещения переносчиков в разных частях их ареалов (Коренберг, Карпенко, 1972; Коренберг и др., 1975, 1976; Коренберг, 1979; Коренберг, Ковалевский, 1985). Мозаичность ареала и его «кружево» по понятным причинам увеличиваются по мере приближения к его границам (Коренберг, Ковалевский, 1986). Но даже если экосистема предоставляет такие условия, это совсем не всегда означает, что имеется реальный риск заражения людей, поскольку в данный момент по тем или иным причинам возбудитель может вообще отсутствовать или его активная циркуляция может существенно замедлиться.

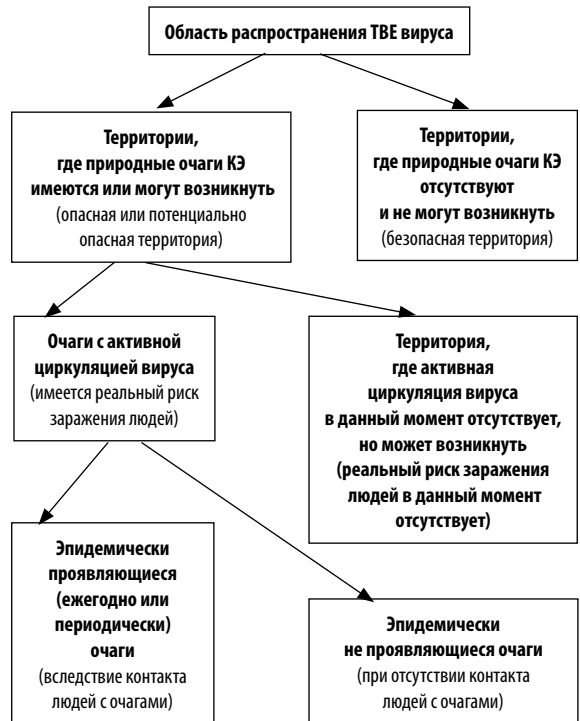


Рис. 2.5. Классификация территорий внутри ареала КЭ по наличию природных очагов и возможности их эпидемического проявления (Korenberg and Kovalevskii, 1999).

2.4. Эпизоотология

2.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики вируса

Сравнение степени важности основных переносчиков возбудителя любой облигатно трансмиссивной инфекции со значением его главных резервуарных хозяев (носителей), которое применительно к КЭ выглядит как прямой или косвенный вопрос о том, существует вирус в природе благодаря клещам или позвоночным животным, и на первый взгляд представляется правомерным, по существу просто не имеет смысла. Возбудитель может существовать только в образованной им паразитарной системе, причем функциональные связи со всеми ее главными сочленами для него жизненно необходимы (Коренберг, 1983). Каждый из сочленов выполняет определенную «функцию» (или «функции»), без которой длительное существование паразитарной системы в целом (эпизоотического процесса) невозможно. Развитию этого положения посвящен практически весь раздел 2.4 (см. также раздел 1.2). Данный подраздел начинается с переносчиков только для удобства изложения материала.

Спонтанная зараженность вирусом КЭ установлена у 18 видов иксодовых клещей, почти полный список которых был опубликован (Korenberg, 1976). Из них только 2 вида, относящиеся к роду *Ixodes*, — его основные переносчики и долговременные хранители (раздел 2.3): таежный (*I. persulcatus*) и лесной (*I. ricinus*) клещи. Уже в 1937 г. Н. В. Рыжов и А. Н. Скрынник экспериментами на лабораторных животных доказали, что таежный клещ передает вирус при укусе, а М. П. Чумаков продемонстрировал способность *I. persulcatus* переносить вирус от больной мыши здоровой (Зильбер, 1939). В дальнейшем роль таежного и лесного клещей как переносчиков и хранителей вируса КЭ в природных очагах была изучена довольно подробно (Шубладзе, Сердюкова, 1939; Чумаков, 1944; Rehaček, 1960, 1962; Пионтовская, Жмаева, 1962; Жмаева и Пчелкина, 1967 и др.; разделы 2.4.2, 2.4.3, 2.4.5). При определенном сочетании условий, на сравнительно ограниченных территориях в восточной части нозоареала важная роль в поддержании природных очагов принадлежит клещу *Haemaphysalis concinna* (Вощакина, Давыдова, 1954; Злобин, Горин, 1996; Леонова, 1997) и, возможно, клещу *I. ovatus* на о. Хоккайдо в Японии (Takashima et al., 1997; Takashima, 1998). Остальные виды относятся к второстепенным, дополнительным или случайным переносчикам вируса КЭ в природных очагах.

Довольно обширная литература посвящена роли неиксодовых членистоногих различных групп как возможных переносчиков вируса КЭ. Описаны случаи выделения вируса от блох, гамазовых и краснотелковых клещей, комаров и некоторых других кровососов, отловленных в природных очагах. Проведен ряд экспериментальных исследований способности восприятия, сохранения и передачи вируса этими членистоногими. После предположения, которое высказал В. Н. Беклемишев (1948), и последовавших за этим целенаправленных работ

(Левкович и Тагильцев, 1956; Тагильцев, 1958) особенно заметную роль в эпизоотологии КЭ отводили гамазовым клещам. Полагали, что клещи этой группы, систематически распространяя вирус между своими хозяевами — мелкими млекопитающими и птицами, осуществляют так называемый «малый круг» или «параллельный цикл» циркуляции возбудителя в природе (Тагильцев, 1960; Тагильцев, Тарасевич, 1982), причем не только в весенне-летний, но и в осенне-зимний период (Феоктистов и др., 1968). Был даже сделан довольно категоричный вывод об отсутствии четкой зависимости процесса циркуляции вируса КЭ в природе от активности пастбищных иксодовых клещей (Краминский, 1973).

Факты, касающиеся возможной роли неиксодовых кровососущих членистоногих, суммированы в ряде публикаций (Земская, 1967, 1973; Петрищева, 1967; Земская, Пчелкина, 1967; Львов, Лебедев, 1974; Бурлаков, Паутов, 1975). Анализ этих фактов показывает, что возможность проникновения вируса КЭ в организм самых различных эктопаразитов с кровью хозяев бесспорна, но само по себе это не доказывает их важную роль в его последующей передаче (см. раздел 7.4.4). «Кровь животного — донора вируса, помимо клещей, — пояснял Е. Н. Павловский (1947, С. 250), — сосет множество кровососущих насекомых и низших клещей, не могущих передавать вирус энцефалита и, следовательно, ...являющихся «тупиками» для дальнейшего существования попавшей в них линии возбудителя энцефалита». По мнению ряда специалистов (Львов, Лебедев, 1974; Чунихин, 1973; Карпов, 1976; Korenberg, 1976 и др.), методически безупречные и убедительные доказательства заметной роли какой-либо группы членистоногих, помимо иксодовых клещей, в циркуляции вируса получить не удалось. В этой связи показательно, что «неиксодовые» переносчики и не упоминаются в современных обзорах по КЭ (Nuttall, 2011; Süß, 2011 и др.). Даже если гамазовые клещи, блохи, комары и другие неиксодовые облигатные или факультативные гематофаги оказываются способными передать вирус, они, очевидно, вводят такую небольшую его дозу, которая вызывает лишь латентную иммунизацию позвоночных животных. В этом заключается их наиболее вероятное эпизоотическое значение. Только при наличии иксодовых клещей — основных переносчиков вируса может быть обеспечено его длительное существование на определенной территории.

Поиски резервуарных хозяев вируса среди различных диких млекопитающих и птиц начались уже в первые годы изучения КЭ на Дальнем Востоке (Соловьев, 1939, 1941, 1941a, 1944; Москвин, 1940; Павловский, 1947). С начала 60-х годов прошлого века и до настоящего времени многие (или даже большинство) специалистов отводят особенно важную роль в диссеминации вируса мелким млекопитающим, вольно или невольно придавая им ключевое значение в существовании всей паразитарной системы. Эта точка зрения нашла отражение в обзорных публикациях, монографиях и руководствах (Blaškovič, 1960; Морозов, 1961; Pretzman et al., 1963; Блашкович, 1966; Кучерук и др., 1969; Radda, 1974, Süß, 2011 и многие др.). Она стала особенно распространенной после обнаружения возможности передачи вируса от зараженного клеща незараженному при их сов-

местном паразитировании на зверьке при отсутствии у него вирусемии (Charrel et al., 2004; Nuttall, 2011; Süss, 2011; раздел 2.4.3). Интенсивно размножающиеся мелкие млекопитающие, отличающиеся, как известно, быстрой сменой популяции, обеспечивают регулярный массовый приток молодых неиммунных особей и тем самым, как полагают (Шилова, 1960; Морозов, 1961; Блашковиц, 1966; Никифоров, 1968; Вотяков и др., 2002; и др.), создают условия для интенсивного размножения и диссеминации вируса. В наиболее категоричной форме о резервуарных хозяевах вируса высказались Блашковиц и Носек (Blašković and Nosek, 1972). По их мнению, его циркуляция поддерживается популяциями только тех видов хозяев, изменение численности которых совпадает с изменением сезонной активности личинок и нимф иксодовых клещей. Приверженцы этой концепции не делают различий между связью колебаний численности клещей (сезонных и особенно годовых) и прокормителей их личинок и нимф, которая, несомненно, довольно четко выражена (Шилова, 1960, 1963; Верета, 1975; Тупикова и др., 1980; Korenberg et al., 2002; Ковалевский и др., 2004; и многие др.), и значением этого явления для существования сложной многочленной паразитарной системы вируса КЭ в целом, а также реальной возможностью заражения мелких млекопитающих и вероятностью передачи ими вируса по ходу эпизоотической цепи.

Мелкие млекопитающие — основные хозяева личинок и важные прокормители нимф таежного и лесного клещей, обеспечивающие само существование этих членистоногих на всем громадном пространстве их ареалов. Прежде всего, именно в этом состоит первостепенное значение мелких млекопитающих как важнейшего сочлена абсолютно всех паразитарных систем (природных очагов) КЭ. Предимагинальные фазы развития клещей — основных переносчиков и среды обитания вируса — в общей сложности паразитируют на зверьках более 50 видов. Наибольшее значение как прокормители клещей по всей лесной зоне имеют лесные полевки рода *Clethrionomys* (*Myodes*) и землеройки бурозубки рода *Sorex*. Этот сходный клетриономисно-сорексовый тип прокормителей имеет два варианта (субтипа). Один из них характерен для Европейской части России и значительной части Центральной Европы, где неполовозрелых клещей прокармливают главным образом рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*) и обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*). Другой вариант свойствен Азиатской части России, где рыжую полевку заменяют красная (*Clethrionomys rutilus*) и (или) красно-серая (*Clethrionomys rufocanus*) полевки (Коренберг, 1979; Тупикова и др., 1980; Korenberg et al., 2002a). В некоторых европейских очагах существенное значение имеют лесная (*Apodemus sylvaticus*) и желтогорлая мыши (*Apodemus flavicollis*), а в дальневосточных — полевая (*Apodemus agrarius*) и восточноазиатская лесная (*Apodemus peninsula*) мыши (Вотяков и др., 2002; Süss, 2011).

Поскольку численность мелких млекопитающих и паразитирующих на них клещей в разных частях ареала вируса варьирует, наиболее пригодны для сопоставления показатели суммарного количества личинок и нимф, выкармливаемых зверьками на единице площади. Подобных данных пока чрезвычайно мало. В весьма

благоприятных для таежного клеща условиях южнотаежных лесов востока Русской равнины в разные годы на 1 га прокармливаются до 6300 личинок и до 2000 нимф (Коренберг, 1979). В еще более благоприятных условиях лиственных и предгорных лесов юга Красноярского края на 1 га в разные годы мелкие млекопитающие выкармливают от 6000 до 14400 личинок этого клеща и от 1000 до 1600 нимф (Васильева, Никифоров, 1968). На Дальнем Востоке, в оптимуме ареала *I. persulcatus*, аналогичные цифры, разумеется, должны быть значительно больше.

Помимо мелких млекопитающих, предимагинальные фазы клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* нападают на более крупных зверьков различных систематических групп. Особенно охотно это делают нимфы, которым свойственна максимальная полизоидность, т.е. наиболее широкий круг прокормителей. Они выполняют «стабилизирующую» функцию, обеспечивая существование популяции клещей при «непредсказуемых» для нее колебаниях численности различных прокормителей. Из числа таких хозяев особого внимания заслуживают ежи, белки и бурундуки, на чью роль в прокормлении клещей указывали многие исследователи, начиная с «первопроходцев» изучения эпизоотологии КЭ (Павловский, 1947). Суммарный индекс обилия личинок и нимф таежного клеща (при явном преобладании нимф) на белках (*Sciurus vulgaris*) составляет от 0,5 до почти 70,0, а на бурундуках, численность которых в азиатской части ареала КЭ обычно высока и не подвержена значительным изменениям в разные годы, — от 0,5 до более 29,0 (Коренберг, 1979). На северо-восточном Алтае, например, за весь период активности клещей бурундуки способны прокормить от 320 до 90 личинок и от 40 до 160 нимф на 1 га (Смирнов и Равкин, 1967). Это значительно меньше, чем выкармливают мышевидные грызуны и землеройки, но для оценки возможной передачи вируса клещами важно, что на бурундуках и других зверьках среднего размера одновременно может паразитировать значительное число личинок, и в особенности нимф.

В ряде районов Центральной Европы большое число личинок и нимф *I. ricinus* прокармливают кроты (*Talpa europaea*). В Чехии, например, неполовозрелые фазы этого клеща обнаруживают на кротах с конца 10-й декады ноября, причем встречаемость может достигать до 100 %, и при этом на многих зверьках бывает по 20–60 клещей (Grulich, 1960). Весной, при меньшей плотности мышевидных грызунов, крот, очевидно, может быть важным хозяином личинок и нимф лесного клеща (Kožuch et al., 1966, 1966a). В более восточных частях ареала КЭ кроты относятся к мало значимым прокормителям, поскольку прокармливают менее 5 % общего числа кормящихся личинок и нимф. Личинки клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* редко нападают на крупных млекопитающих (по крайней мере, в России), а нимфы в массе паразитируют на них (Коренберг и др., 1975).

Итак, мелкие млекопитающие (мышевидные грызуны и землеройки) — несомненно, главные хозяева личиночной фазы клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Их значение в прокормлении нимф в целом весьма ощутимо, но не определяет возможностей самого существования популяции клеща на этой фазе развития. В различных природных очагах оно варьирует в зависимости от состава и чи-

сленности позвоночных других групп, на которых могут с успехом паразитировать нимфы.

Сопоставление результатов многолетней крупномасштабной съемки размещения мелких млекопитающих и неполовозрелых фаз развития таежного клеща показало, что распределение по территории природного очага личинок и нимф таежного клеща отличается большой пестротой и не связано с размещением и численностью лесных мышевидных грызунов и насекомоядных (Кучерук и др., 1965). Специальной съемкой размещения и численности мелких млекопитающих в 21 лесном массиве, которые были расположены в различных частях Вятско-Камского междуречья, показано, что уровень их численности в период паразитирования личинок и нимф довольно близок, а экстремальные значения показателя обилия таежного клеща в этих лесах отличались друг от друга более чем в 200 раз (Ковалевский и др., 1969). Эти данные и анализ обширных литературных материалов привели к выводу, что, несмотря на годовые и сезонные различия в численности мелких млекопитающих и неравномерность их размещения, ежегодно и практически повсеместно зверьков бывает вполне достаточно, чтобы обеспечить прокормление основной массы выкармливающихся личинок и определенной части нимф главного переносчика вируса. Это означает, что на значительном протяжении ареала вируса КЭ мелкие млекопитающие вряд ли могут определять неравномерность течения эпизоотического процесса во времени и пространстве (Коренберг, 1970).

Чтобы получить представление о роли мелких млекопитающих в диссеминации вируса КЭ, следует проанализировать имеющиеся результаты их экспериментального заражения. Оставим в стороне опыты по внутримозговому заражению зверьков, поскольку они ни в какой мере не соответствуют естественному пути их инфицирования, а также итоги заражения животных, образ жизни и распространение которых исключают возможность их участия в циркуляции вируса. Остальные эксперименты, на первый взгляд, позволяют сделать чрезвычайно обнадеживающий вывод, поскольку при подкожном заражении российским экспериментаторам удавалось проследить достаточно продолжительную вирусемию, которая у зверьков разных видов продолжалась от 3 до 21 дня. Так, у наиболее важных прокормителей личинок клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* (см. выше) вирусемия продолжалась 12 дней после введения им 0,1 мл заражающей мышинной мозговой суспензии в разведении 10^{-2} – 10^{-3} при максимальном разведении крови подопытных полевок, в которой был обнаружен вирус 1:1000 (Пчелкина и др., 1969). У обыкновенной бурозубки вирусемия продолжалась 21 день при максимальном разведении ее крови 1: 10 000, но параметры инокулята вообще не указаны (Морозов, Шилова, 1965). Примерно в половине всех экспериментов указан лишь объем инокулированной суспензии и ее разведение, из чего можно заключить, что зверьков заражали огромной, но точно неизвестной дозой вируса. Эти эксперименты дают весьма слабое представление об истинной восприимчивости животных к вирусу КЭ, особенно если принять во внимание, что клещ при крово-

сосании вводит всего несколько десятков микролитров слюны, в которой может содержаться вирус (Балашов, 1967). Между тем в экспериментах, о которых идет речь, подкожно вводили от 0,1 до 1 мл заражающего материала (Коренберг, 1979).

Опыты по подкожному заражению, при которых была точно известна вводимая доза возбудителя и максимальные показатели наблюдавшейся вирусемии, проведены только с западными штаммами вируса КЭ и зверьками всего нескольких видов. Эти дозы значительно превосходили то количество вируса, которое мелкие млекопитающие могут получить в природе от клещей. Тем не менее, они дают более реальное представление об их восприимчивости к вирусу КЭ. В этих экспериментах продолжительность вирусемии у зверьков разных видов оказалась значительно меньше. У рыжей полевки, например, при введении $2 \cdot 10^5$ – $3 \cdot 10^5$ интрацеребральных LD_{50} (для белых мышей) вирусемия продолжалась 4–5 суток при максимальном содержании вируса в ее крови 1,62–3,00 lg $LD_{50/0,03}$ (Malkova et al., 1965). Чтобы личинки и нимфы не только получили вирус, но и оказались способными передать его следующей фазе развития клеща (трансфазовая передача), уровень вирусемии у прокормителей должен быть не ниже 2,7 lg $LD_{50/0,03}$ (Чунихин и др., 1981).

Решающее значение имеют результаты лабораторного инфицирования зверьков естественным путем, т.е. при кормлении на них зараженных личинок или нимф клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Таких экспериментов проведено совсем немного, и они тоже не дают четкого представления о степени восприимчивости разных видов к вирусу КЭ, поскольку на подопытных животных в ряде случаев одновременно сажали такое количество клещей, которое не соответствует их реальным индексам обилия на зверьках данного вида в естественных условиях. Так, при кормлении на рыжей полевке одновременно 15–20 личинок таежного клеща вирусемия продолжалась 12 суток при максимальном разведении крови зверька 1:10 000 (Морозов, 1965), а при посадке на обыкновенную бурозубку 5–6 нимф лесного клеща вирусемия наблюдалась только 3 суток при максимальном титре вируса в ее крови $10_{50/0,03}$ (Kożuch et al., 1967). Тем не менее, такая продолжительность вирусемии и наблюдавшаяся при этом концентрация вируса в крови экспериментальных животных, видимо, достаточны для передачи вируса от зараженных зверьков незараженным клещам. Следовательно, есть основание полагать, что при условии одновременного паразитирования на мелких млекопитающих какого-то числа личинок и (или) нимф зверьки в естественных условиях могут заражаться КЭ с последующей достаточно интенсивной вирусемией, а нападение на таких зверьков в указанный период незараженных клещей может приводить к передаче им вируса. Учитывая, что индивидуальная зараженность голодных личинок и нимф, как правило, менее 1%, вероятность передачи в значительной степени определяется числом кормящихся клещей (индексом их обилия), т.е. возможностью осуществления трансмиссивной функции канала передачи возбудителя. В подавляющем большинстве случаев даже в природных очагах КЭ с высоким лоймопотенциалом такие индексы на мелких млекопитающих бывают

сравнительно небольшими, о чем свидетельствуют многочисленные данные. Полевые паразитологические и экспериментальные вирусологические исследования в совокупности позволяют предположить, что из числа прокормителей неполовозрелых фаз клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* более или менее регулярное участие в поддержании процесса циркуляции вируса в большинстве природных очагов, вероятнее всего, принимают главные прокормители личинок: лесные полевки, обыкновенная бурозубка, в некоторых очагах — лесные мыши (Heigl and Zeipel, 1966; Chunikhin, Kurenkov, 1979; Kožuch et al., 1981; Наумов и др., 1984), а также виды, на которых, кроме личинок, часто и в большом количестве паразитируют нимфы (например, бурундук и др.). Авторы сравнительно недавней публикации (Бахвалова и др., 2001) подвергают сомнению значение обыкновенной бурозубки в циркуляции вируса, что свидетельствует о необходимости дополнительных исследований по этому поводу. Реальность заражения неполовозрелых клещей при их насыщении на мелких млекопитающих усиливается возможностью передачи вируса при отсутствии вирусемии у прокормителей (см. раздел 2.4.5). Участие зверьков других видов в поддержании циркуляции вируса в природных очагах возможно, но вероятность такого события представляется сравнительно небольшой. В целом мелкие млекопитающие лишь в определенных, сравнительно небольших, но важных для существования вируса пределах могут изменять масштаб инфицирования поколения клещей (Коренберг, 1979). Примерно сходным образом характеризуют их значение для существования возбудителя шотландского энцефалита овец, который очень близок к вирусу КЭ (Varma and Smith, 1971).

Вместе с тем мелкие млекопитающие, несомненно, весьма часто контактируют с вирусом КЭ, что приводит к появлению у них гуморальных антител. Величину иммунной прослойки среди диких зверьков изучали многие исследователи в различных частях ареала вируса. Из-за разного набора видов и различий применявшихся серологических тестов эти материалы мало сопоставимы. Однако они свидетельствуют о том, что иммунная прослойка в популяциях видов-прокормителей личинок и нимф иксодовых клещей повсеместно и в разные годы бывает весьма значительной. Специальные полевые исследования показали, что сопоставление доли особей с антителами у разных видов с показателями паразитирования клещей (числом личинок и нимф, выкармливаемых за сезон одним зверьком, среднесезонными индексами обилия и встречаемости зверьков с клещами) не выявляет корреляционно зависимости между этими показателями. На участках, существенно различающихся по уровню численности личинок и нимф, четкие отличия в величине иммунной прослойки среди мелких млекопитающих не обнаруживаются (Никитина и др., 1969; Наумов и др., 1970). Это объясняется закономерностями иммуногенеза у зверьков. В естественных условиях антигемагглютинины, например, появляются у них вскоре после контакта с вирусом, однако они длительно не сохраняются. Их титры при отсутствии повторных заражений постепенно снижаются, и уже через 20–60 дней антитела не обнаруживаются (Никитина и др., 1967, 1968). Таким образом, на протяжении

одного весенне-летнего сезона некоторые зверьки могут остаться неиммунными (если они не контактировали с вирусом); другие могут приобрести гуморальный иммунитет и утратить его в сроки, делающие вероятной их повторную естественную иммунизацию (если первое заражение произошло в начале периода паразитирования преимагинальных фаз). Зверьки, приобретшие антитела в конце лета, утрачивают их в осенне-зимние месяцы. Иммунная прослойка в популяции в целом по существу складывается из результата этих динамических процессов. Эти заключения в значительной мере основаны на повторных отловах меченых зверьков и неоднократных исследованиях их крови. Их игнорирование приводит, спустя почти полвека (Бахвалова и др., 2003), к довольно поверхностным суждениям о процессе формирования иммунной прослойки к вирусу КЭ у мелких млекопитающих и изобретению по этому поводу «велосипеда с квадратными колесами».

В целом заражение мелких млекопитающих вирусом КЭ и их иммунизация имеют строго сезонный характер. Первые иммунные зверьки появляются весной. Наибольшее их число бывает в популяции к концу сезона паразитирования личинок и нимф. Кривая, отражающая изменение величины иммунной прослойки, следует за кривой сезонного изменения обилия паразитирующих личинок и нимф с задержкой на 1–2 месяца (Кучерук и др., 1965). Гуморальные антитела, и в особенности антигемагглютинины, появляются в ответ на введение даже минимального (не вызывающего вирусемии) количества антигена (Левкович, Скрынник, 1941). Иммунологический статус каждого зверька (и популяции в целом) лишь в грубых (не точных) пределах отражает частоту контакта с вирусом, тем более, что в экспериментальных условиях иммунные мелкие млекопитающие могут поддерживать передачу вируса от зараженного клеща незараженному (Labuda et al., 1997; Карганова, 2007). Значительная иммунная прослойка может появиться уже при сравнительно низкой численности клещей. Это положение полностью подтверждают данные многих публикаций. Величина иммунной прослойки в популяции в целом, которая может изменяться в определенном фиксированном диапазоне (от 0 до 100%), плохо отражает возможные отличия лоймопотенциала природных очагов КЭ (Коренберг, 1979).

Закономерности естественной иммунизации мелких млекопитающих показывают, что нельзя отождествлять число иммунных зверьков и число зверьков, способствовавших циркуляции вируса, т.е. реагировавших на заражение достаточно продолжительной и интенсивной вирусемией, и способных реально передать вирус незараженным клещам. Подсчет по числу иммунных зверьков количества личинок и нимф, получивших вирус, а также анализ и прогнозирование на этой основе интенсивности эпизоотического процесса (Бабенко и др., 1962; Никифоров и др., 1963; Добротворский и др., 1994) представляются совершенно неоправданными.

Уже 30 лет назад было известно, что клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus* способны нападать на птиц около 180 видов (Наумова, 1985). К настоящему времени этот список предположительно увеличился на 20–30 видов за счет орнитофауны западных и, особенно, дальневосточных частей ареалов клещей. На особей

большинства видов птиц клещи нападают редко и далеко не повсеместно. Более регулярно они паразитируют на птицах, которые проводят много времени на земле в поисках корма (Павловский, 1947; Кучерук и др., 1953). На пернатых могут прокармливаться клещи всех трех активных фаз развития, однако имаго встречаются редко. Основную массу клещей, собранных с птиц, в отличие от мелких млекопитающих, обычно составляют нимфы, которых на этих хозяевах бывает в несколько раз больше, чем личинок. Но в некоторые годы, отличающиеся особенно большим запасом голодных личинок, они нападают на пернатых даже чаще, чем нимфы (Коренберг и др., 1964). В некоторых дальневосточных районах птицы ряда видов вообще прокармливают в основном личинок (Черных и др., 1962). Поскольку особенности образа жизни птиц, уровень численности клещей, а также состав и суммарное обилие их прокормителей в различных природных очагах неодинаковы, степень пораженности пернатых одних и тех же видов личинками и нимфами в разных частях лесной зоны отличается (Коренберг, 1966). Некоторые виды пернатых имеют ограниченное распространение и прокармливают клещей лишь в определенных частях ареала КЭ. Поэтому естественно, что каждому природному очагу свойствен определенный набор видов, составляющих группу облигатных, факультативных или случайных птиц-клещеносителей. Повсеместные хозяева иксодовых клещей — лишь лесные тетеревиные птицы, овсянки, коньки и дрозды (Шилова, Чабовский, 1960). Пораженность этих птиц клещами постепенно уменьшается с востока к центру Европейской части России, а затем снова увеличивается к западу. Отличия в степени заклещевания пернатых в разных частях лесной зоны связаны с географическими изменениями общего уровня численности клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* (Коренберг, 1962). Значение птиц каждого вида как прокормителей наиболее точно характеризует количество клещей, прокармливаемых на единицу площади, которое можно подсчитать, зная абсолютную численность прокормителей и среднюю величину характерного для них индекса обилия личинок и (или) нимф. В европейских южнотаежных лесах (юг Кировской области), например, из птиц больше всего нимф выкармливает лесной конек (*Anthus trivialis*) — 1100 на 1 км², дрозды (г. *Turdus*) — около 350 на 1 км² и тетерев (*Lyrurus tetrrix*) — 140 на 1 км². Затем (в порядке уменьшения значений) идут рябчик (*Tetrastes bonasia*), обыкновенная овсянка (*Eberiza citrinella*), зяблик (*Fringila coelebs*) и глухарь (*Tetrao urogallus*). Птицы остальных видов прокармливают ничтожное количество клещей или практически вообще не прокармливают их (Коренберг и др., 1964). Понятно, что не только в разных регионах, но даже в разных условиях одного и того же региона степень участия того или иного вида в прокормлении клещей зависит от его численности и может быть совершенно различной.

Анализ накопленных данных позволил сделать заключение, что повсеместно и во все годы птицы остаются лишь дополнительными прокормителями предимагинальных фаз *I. persulcatus* и *I. ricinus*. На большей части Восточно-Европейской равнины, в области относительного пессимума ареалов этих клещей, где на птиц

нападает очень мало клещей, эти позвоночные практически не имеют значения как их прокормители. На востоке и западе области распространения КЭ, в пределах территорий с оптимальными условиями существования каждого из рассматриваемых видов иксодовых клещей, на птиц нападает значительно больше личинок и нимф. Абсолютное количество паразитов, которое выкармливают здесь пернатые, безусловно, может быть довольно большим. Однако поскольку численность самих клещей в этих районах очень высока, весьма вероятно, что и здесь на птицах паразитирует лишь сравнительно небольшая часть личинок и нимф (Коренберг, 1964, 1966).

Птицы, несомненно, способны переносить кормящихся на них клещей из одного биотопа в другой, а также во время перелетов на значительные расстояния, чему посвящена довольно обширная литература. Не вдаваясь в подробный анализ данной проблемы, которая периодически становится «модной», попытаемся сформулировать самые общие заключения, к которым приводят накопленные данные. На территории значительной или даже большей части ареала КЭ весенний пролет большинства видов птиц проходит до начала массовой активации личинок и нимф, на что, обсуждая возможность переноса клещей пернатыми, обратил внимание еще Е. Н. Павловский (1947). Тем не менее, нельзя исключить возможность дальней транспортировки единичных клещей *I. persulcatus* и особенно *I. ricinus* птицами во время их весенних перелетов, о чем свидетельствуют случаи сбора немногочисленных членистоногих с перелетных птиц и обнаружение единичных клещей на значительном расстоянии от северных границ их ареалов (Коренберг, 1979). Ареалогическое значение этих фактов для вируса КЭ и самих клещей обсуждается в разделе 2.5.4. В гнездовой период птицы, как известно, держатся в пределах постоянных гнездовых участков. Личинки и нимфы, напавшие на пернатых в это время, в большинстве случаев не могут быть перенесены на значительное расстояние. Во вторую половину лета птицы значительно более подвижны и могут утрачивать напивавшихся на них клещей на значительном расстоянии от тех мест, где они напали. Позднелетние и осенние миграции некоторых видов птиц могут иметь в этом отношении определенное значение, особенно если они совпадают по времени с повторным (осенним) пиком активности преимагинальных фаз клеща *I. ricinus* или проходят по территориям с более продолжительным периодом активности личинок и нимф *I. persulcatus*.

Имеющиеся экспериментальные данные оставляют очень «туманное» представление о возможной роли птиц в диссеминации вируса КЭ. Так, по описанным выше причинам не имеет смысла рассматривать работы по внутримозговому заражению птиц нескольких видов. Неудачными оказались попытки заразить хищных птиц-«мышеловов» алиментарным путем, скармливая им больных КЭ агонизирующих мышей (Rehaček et al., 1963). При подкожном заражении птиц почти 20 видов исследователи в большинстве случаев обнаруживали вирус в крови пернатых в разные сроки после их заражения точно невыясненной дозой возбудителя. Авторы таких публикаций приводят лишь концентрацию взвеси мозговой суспензии инфициро-

ванных белых мышей (чаще всего 1:10 или 1:100) и объем инокулята, введенного пернатым (0,1–0,5 мл). По этим цифрам ясно, что заражение было произведено очень большими дозами вируса, во много раз превосходящими дозу возбудителя, которая может попасть в организм птиц при их естественном инфицировании зараженными личинками или нимфами, поскольку организм одного такого клеща *I. persulcatus* или *I. ricinus* содержит около $10^{3,2}$ – $10^{3,5}$ lg LD_{50/0,03} (Думина, 1959; Grešiková, Ernek, 1965). Экспериментальная подкожная инокуляция точно известными дозами вируса проведена птицам всего нескольких видов: черным дроздам (*Turdus merula*) — дозой вируса, которая приблизительно в 7 раз превышает его содержание в одной инфицированной нимфе, большим синицам (*Parus major*) — дозой, которая может содержаться в 70, а фазанам (*Phasianus colchicus*) — в 5000 вирусофорных нимфах. Но даже при заражении такими большими дозами возбудителя у птиц не наблюдали никаких клинических признаков заболевания, не обнаруживали вирус в крови и не отмечали появление вируснейтрализующих антител (Grešiková et al., 1962, 1962a; Nosek et al., 1962). Следовательно, можно считать, что пернатые этих видов мало восприимчивы к вирусу КЭ или по меньшей мере к тем его штаммам, с которыми проведена экспериментальная работа. Виремия после подкожного заражения сравнительно небольшими дозами вируса отмечена только у некоторых околородных и домашних птиц, которые по особенностям их местообитаний не могут играть заметной роли в циркуляции вируса в природе. Прямыми опытами не подтверждена способность птиц передавать вирус клещам. Вопрос о судьбе возбудителя КЭ в организме птицы, который еще в 1940 г. поставил Е. Н. Павловский, и сегодня далек от окончательного решения, хотя известно около 150 видов птиц, от которых выделен вирус или получены положительные результаты при проверке в серологических тестах сывороток их крови и (или) экстрактов внутренних органов.

Путем исследования мозга птиц установлено спонтанное вирусоносительство птицами многих видов (Наумов и др., 1963), что несомненно свидетельствует об их способности заражаться вирусом КЭ. Анализ результатов таких наиболее массовых исследований показывает, что в нашей стране пернатые значительно чаще заражаются в восточной части ареала КЭ, где численность клещей особенно велика и где птицы наиболее интенсивно поражены их личинками и нимфами (Коренберг, 1966). Однако вирус, персистирующий в мозгу животного, не может быть передан переносчику и практически исключается из процесса циркуляции возбудителя в природном очаге. Известны немногие факты выделения и надежной идентификации возбудителя из крови птиц, причем большинство изолятов получены в восточных районах области распространения КЭ.

Закономерности формирования иммунной прослойки в популяции птиц, на которых часто нападают неполовозрелые фазы иксодовых клещей, и продолжительность сохранения пернатыми антител к вирусу КЭ в общих чертах сходны с описанными выше подобными процессами у мелких млекопитающих. Число иммунных птиц в популяции тетеревов, например, увеличивается от весны к осени. Величина иммунной прослойки в разные годы зависит от количества прокар-

вливающихся на тетеревах личинок и нимф клеща. Тормозящие гемагглютинацию и, по всей вероятности, вируснейтрализующие антитела, приобретенные в течение весенне-летнего сезона, на протяжении последующих осенне-зимних месяцев у птиц этого вида исчезают (Коренберг и др., 1984а). Специфические антитела к вирусу КЭ в крови птиц свидетельствуют, разумеется, о заражении пернатых. Но, как уже говорилось выше, они не дают права считать, что животные того или иного вида участвуют в процессе циркуляции этого возбудителя.

Вирусологические исследования, проведенные в различных природных очагах, показали, что птицы регулярно контактируют с вирусом и заражаются КЭ. Тем не менее до сих пор получено чрезвычайно мало прямых доказательств их участия в процессах циркуляции и диссеминации вируса. Значение птиц в природных очагах КЭ существенно отличается от их роли в очагах некоторых так называемых комариных вирусных энцефалитов, существование которых они в значительной мере обеспечивают. Пернатые, по всей вероятности, могут быть лишь дополнительными хозяевами возбудителя КЭ и принимают заметное участие в процессе его циркуляции только в тех районах, где на них нападает много иксодовых клещей.

В некоторых регионах, особенно в южной части ареала клеща *I. ricinus* (Вотьяков и др., 2002; и др.), заметное количество его личинок нападает на прытких ящериц (*Lacerta agilis*). Однако пока нет данных для более полной оценки их «вклада» в прокормление преимагинальных фаз переносчиков.

До сих пор не существует единого мнения по поводу роли крупных диких и домашних животных или, точнее, прокормителей имаго в эпизоотологии КЭ. Еще на заре изучения этой проблемы и позднее некоторые исследователи высказывали соображения о важном значении данной группы млекопитающих (Кузякин, 1942; Устинов, 1962, 1972; и др.). Однако постепенно как в нашей стране, так и за рубежом укрепилась точка зрения, согласно которой прокормители имаго не играют существенной роли в циркуляции вируса и могут быть лишь своеобразными «индикаторами» наличия возбудителя в природе (Blaškovič and Nosek, 1972; Süss, 2011). Такой вывод основывают главным образом на сложившихся почти априорных представлениях об особенностях гуморального иммунитета при КЭ, согласно которым антитела, появляющиеся вследствие контакта с вирусом, длительно сохраняются, и это препятствует дальнейшему участию животных в циркуляции возбудителя. Из этой концепции логически следует, что роль млекопитающих с многолетней продолжительностью жизни в диссеминации вируса КЭ, среди которых преобладают животные более крупных размеров, должна быть ограничена, т.к. они быстро становятся иммунными, а их ежегодный приплод сравнительно мал (Павловский, 1960; Шилова, 1960; Морозов, 1961; Blaškovič and Nosek, 1972; Riedl et al., 1973; Radda, 1974; и многие др.).

Эти взгляды плохо согласуются с тем, что во многих широко известных работах неоднократно отмечено: места кормления, водопоя, дневок и ночевок крупных животных, их тропы и участки, регулярно посещаемые животными, отличаются

повышенной численностью клещей. Имеются указания на высокую пораженность клещами *I. persulcatus* или *I. ricinus* рыси, кабана, благородного оленя, косули, зубра и др. Тем не менее в связи с трудностью получения репрезентативного материала за всю историю изучения КЭ в разные годы, в разных местах и разными исследователями на наличие клещей обследовано крайне немногочисленное количество диких копытных и лишь единичные особи крупных хищников. Относительно достоверная и конкретная информация имеется лишь по ежам и зайцам. Эти животные прокармливают все три фазы развития клещей. Доля ежей с клещами (при осмотре в трех разных регионах от 22 до 169 особей) — от 63 до 100 %; индекс обилия личинок на них — от 0 до 3,2, нимф — от 0 до 3,5, взрослых клещей — от 0,1 до 1,0. В марте–ноябре 2009–2010 гг. в городском парке площадью всего около 1 км², расположенном в центральной части Будапешта, с 247 ежей было снято 4746 клещей *I. ricinus*, из которых 53,6% составляли взрослые особи, а остальные — нимфы; суммарный индекс обилия клещей составил 19,2 (Földvári et al., 2011). При осмотре в восьми регионах (от Крыма до Северо-Восточного Алтая) от 4 до 60 зайцев встречаемость клещей в достоверных случаях составила 85–100 %, индекс обилия личинок — от 0 до 44,0, нимф — от 0 до 24,0, имаго — от 3,0 до 85,0. Вариация этих показателей объясняется не только различиями в уровне численности клещей в разных регионах, но и тем временем, когда животные были получены для осмотра и степенью его совпадения с периодом сезонной активности разных фаз клещей. Наиболее репрезентативные данные получены при осмотре более 400 благородных оленей (*Cervus elaphus*) в оленеводческом хозяйстве на территории Алтая, где животные круглогодично живут в естественных условиях (Коренберг и др., 1975). С них было собрано 126 взрослых и 513 нимф *I. persulcatus*. Эти данные лишь примерно характеризуют истинную пораженность животных клещами, т.к. они получены при беглом осмотре оленей во время срезки пантов у животных, которые непосредственно перед этим обычно 2–3 дня содержатся в специальном загоне, где большая часть напитавшихся клещей, видимо, успевает отпасть. Сравнительно небольшое количество собранных взрослых клещей объясняется тем, что срезку пантов и, соответственно, осмотр животных проводили после 20 июня, т.е. во время спада и окончания сезонной активности этих членистоногих. Встречаемость взрослых клещей с первой декады осмотра оленей до середины июля–августа уменьшилась с 22,1% до 1,9%, а их индекс обилия — до 1,9%. Нимфы чаще встречались с первой декады июля до середины августа (на 68–70% осмотренных животных), а их наибольший индекс обилия составил в первой декаде июля 2,1. Эти данные, а также литературные сведения, показывают, что благородные олени, косули (г. *Capriolus*), дикие копытные других видов, как и животные средних размеров (ежи, зайцы — см. выше), способны выкармливать большое количество нимф *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Для эпизоотологии КЭ чрезвычайно важно, что нимфы могут паразитировать на диких животных крупных и средних размеров одновременно со взрослыми клещами (раздел. 2.4.3).

В обжитых районах большое значение в прокормлении взрослых клещей имеют сельскохозяйственные животные, особенно крупный рогатый скот. Во многих случаях они выступают в роли основных прокормителей имаго, особенно в тех регионах, где в связи с нехваткой луговых пастбищ, обусловленной естественными ландшафтно-зональными причинами (например, в полосе смешанных хвойно-широколиственных и широколиственно-хвойных лесов Вятско-Камского междуречья), скот издавна и регулярно выпасают в лесах. При умеренном выпасе они способствуют не только увеличению численности клещей, но и росту их вирусофорности (Карпов, 1976). На лесных пастбищах численность клещей после начала выпаса скота может увеличиться в несколько раз. Его дальнейшая роль определяется не столько тем, что крупный рогатый скот «... в результате длительного пребывания в очагах оказывает супрессивное действие на клещей и на циркуляцию вируса КЭ» (Вотьяков и др., 2002, С. 392), сколько степенью его воздействия на состояние пастбищ. При интенсивном выпасе на ограниченной площади, (т.е. при перевыпасе) нарушается, как хорошо известно, естественный флористический состав, а также структура травяного покрова и всего поверхностного слоя почвы, изменяются микроклиматические условия, происходит деградация биоценоза в целом (не только в лесной, но и в других зонах), неблагоприятно влияющая на все фазы цикла развития клещей. Это обычно довольно быстро приводит к снижению их численности и уменьшению лоймопотенциала природного очага КЭ (Кучерук, 1980). При умеренном выпасе природные очаги существуют длительное время, а значения показателей их лоймопотенциала и эпидемического проявления демонстрируют обычные отклонения по годам в ту или другую сторону от среднепогодной нормы.

Сопоставимые данные о том, какая часть генерации основного переносчика обязана своим существованием диким и домашним животным того или иного вида, можно получить по формуле, которую предложил Н. Г. Олсуфьев (1953). Для этого нужно знать индекс обилия клещей на каждом хозяине, его абсолютную численность, продолжительность периода активности клещей и среднюю продолжительность пребывания клеща на хозяине до его полного насыщения и отпадения. Так, в лесах Волжско-Камского междуречья, например, в условиях умеренного выпаса в лесу одна корова в течение весенне-летнего периода прокармливает примерно 30 взрослых клещей *I. persulcatus*, что значительно меньше, чем любое дикое млекопитающее: каждый заяц-беляк (*Lepus timidus*) выкармливает в среднем около 195 клещей, лось (*Alces alces*) — 150, лисица (*Vulpes vulpes*) — 135, остальные хозяева имаго — в общей сложности 75. Но поскольку плотность крупного рогатого скота на 1 км² территории, покрытой лесом, значительно превосходит плотность каждого из других названных диких позвоночных и даже всех вместе взятых, общее количество клещей, выкармливаемое коровами, составляет примерно половину общего числа имаго, выкармливающихся за лето. Из числа диких позвоночных наиболее существенная роль в поддержании популяции таежного клеща принадлежит зайцу-беляку, который обеспечивает насыщение не менее 30–35 % прокармливающихся имаго (Коренберг, 1978).

Звери всех остальных видов выкармливают в общей сложности не более 15–20 % взрослых клещей. Разумеется, в разных регионах это соотношение не одинаково, но сопоставимые аналогичные данные почти отсутствуют. Известно, однако, что на Дальнем Востоке, в обжитых районах Уссурийской долины более 62 % взрослых таежных клещей прокармливают коровы и более 25 % — дикие копытные (Савицкий, 1970).

Несмотря на недостаток фактических данных и необходимость дальнейшего детального изучения особенностей паразитирования пастбищных клещей на крупных животных, приведенные данные свидетельствуют о важной роли животных этой группы в поддержании очагов КЭ, поскольку они обеспечивают репродукцию и появление новых генераций основных переносчиков. По мнению некоторых исследователей (Вотяков и др., 2002, С. 391), поскольку «в природе не имеется достаточного количества крупных животных... прокормление имаго является лимитирующим фактором в процветании популяции клещей».

Несколько особняком в этом отношении стоят козы. При выпасе в лесу на них регулярно нападают и, как полагают, успешно накармливаются взрослые клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus* (Вотяков и др., 2002). По опубликованным данным в Татарской АССР, например, в период максимальной активности таежного клеща каждая коза за месяц выкормила в среднем 21 взрослого клеща (Гильманова, Губайдуллина, 1959). Однако на козах очень редко удается найти сильно напитавшихся клещей. Предпринятый специальный выпуск голодных самок *I. persulcatus* на экспериментальное животное показал, что в какой бы части тела клещи ни присосались, через 2–3 дня коза, активно «очесываясь» рогами и копытами, полностью освобождается от них (неопубликованные наблюдения Э.И. Коренберга). За это время животные могут получить вирус от зараженных клещей, но клещи, для полного насыщения которых обычно нужно не менее 6 суток, не успевают самостоятельно отпасть и чаще всего гибнут. Примечательно в этом отношении, что 90,2% взрослых *I. ricinus*, которые были в Белоруссии сняты с коз (и с людей, редко допускающих длительное присутствие на теле присосавшегося клеща), были полунапитавшимися (Вотяков и др., 2002, С. 233). Поэтому козы, при несомненной большой эпидемической важности (раздел 2.5.1), видимо, имеют весьма малое значение как прокормители переносчиков КЭ, хотя известно, что в Центральной Европе козы могут выкармливать клещей *I. ricinus*, причем как имаго, так и нимф (Blaškovič and Nosek, 1972). Различия в значении коз как прокормителей клещей в разных регионах академик тогдашней Чехословацкой Академии Наук Б. Росицкий связывал с особенностями их поведения (устное сообщение). Взрослые *I. persulcatus* и *I. ricinus*, несомненно, могут паразитировать и на овцах. Но из-за трудностей обнаружения клещей среди густой шерсти этих домашних животных данные о степени их участия в прокармлении клещей практически почти отсутствуют.

В разное время вирусологически было обследовано незначительное количество диких животных — прокормителей имаго клещей (Соловьев, 1939; Устинов, 1962; и др.), а случаи изоляции вируса еще более редки. В Свердловской области

выделено 2 штамма из мозга зайцев-беляков при исследовании 20 животных (Чумаков и др., 1940). Из мозга 15 косуль (*Capreolus capreolus*), добытых на территории бывшей ГДР, удалось изолировать 6 штаммов (Негробов и др., 1962). Известны и другие выделения единичных штаммов.

Экспериментально установлено, что вирусемия у косули продолжается около 6 дней, у зайцев-русаков (*Lepus europaeus*) — 5 дней, у лисицы — 4 дня (Ernek, Škoda, 1958; Блашкович, 1967; Nosek et al., 1967). У ежей при различных способах заражения вирусемия длилась от 6 до 14 дней (Kožuch, Nosek, 1964; Kožuch et al., 1966; Кучерук, Пчелкина, 1966), причем вирус сохранялся в их крови во время зимнего неактивного состояния (Kožuch et al., 1966). Вместе с тем эксперименты по заражению крупных животных такими дозами вируса, которые они могут получить при естественном инфицировании, практически отсутствуют (Наумов и др., 1983). В эксперименте не удалось добиться передачи вируса КЭ от крупных животных клещам, что послужило поводом для отрицания роли прокормителей имаго как источника вируса для клещей (Блашкович, 1966; Nosek et al., 1967; Blaškovič and Nosek, 1972; Grešikova, 1972). Однако эти негативные результаты скорее всего были связаны с физиологическим состоянием клещей и небольшим сроком между кровососанием и исследованием членистоногих на вирусносительство, недостаточным для накопления вируса в клещах. У подавляющего большинства крупных диких животных инфекция, как правило, клинически не проявляется. Этот признак, как полагают некоторые исследователи (Чунихин, 1962), свидетельствует об исторически сложившихся постоянных связях между арбовирусом и его хозяевами. Основная предпосылка и условие становления подобной специфичности вируса — паразитирование на долгоживущих крупных животных имаго иксодовых клещей.

В очагах КЭ серологически были обследованы единичные ежи, лисы, медведи, кабаны, благородные олени, косули, лоси, серны и зайцы. В большинстве случаев в тех или иных реакциях у части животных обнаружены антитела. Репрезентативные данные известны только по косуле, зайцу-русаку и благородному оленю. В первом случае из 95 животных у 65 (около 66%) были обнаружены вируснейтрализующие антитела (Aritzsch, 1965); во втором случае (Ašmera et al., 1965) антитела выявлены у 19% зайцев из 400 исследованных.

От благородных оленей из упомянутого выше мараловодческого хозяйства в Алтайском крае получены и исследованы в реакции нейтрализации вируса КЭ и реакции торможения гемагглютинации сыворотки крови 403 самцов (83% от общего числа самцов и примерно 38% всей популяции) в возрасте от 2 до 19 лет. Одновременно в 22 биопробах на белых мышах исследованы на наличие вируса КЭ частично или почти полностью напитавшиеся взрослые *I. persulcatus* и в 19 биопробах — 384 нимфы (Коренберг и др., 1975). Вируснейтрализующие антитела были обнаружены в крови 94% оленей, причем средний индекс нейтрализации составлял 4,3, что свидетельствовало о довольно высоком уровне иммунитета. У 92% животных были и антигемагглютинины. Однако комплементсвязывающие антитела, свидетельствующие о сравнительно недавнем заражении вирусом КЭ

(Львов, 1961; Ильенко, 1965), произошедшем скорее всего в текущем весенне-летнем сезоне, имели только 61 % оленей. Иными словами, иммунологический статус примерно третьей части популяции по всей видимости был обусловлен заражением (или заражениями) животных в предшествующие годы.

Анализ возрастных особенностей иммунизации оленей подтвердил интенсивность их контакта с вирусом КЭ. Уже среди двухлетних животных, т.е. после второго в их жизни сезона паразитирования клещей *I. persulcatus*, иммунная прослойка по РТГА и РН превышала 80 %. Начиная с трех- четырехлетнего возраста олени по существу почти поголовно имеют вируснейтрализующие антитела и антигемагглютинины. Судя по результатам РСК, свежие заражения отмечаются в каждой возрастной группе у 49–76 % оленей. Однако с возрастом не происходит нарастания интенсивности показателей гуморального иммунитета: среднегеометрические титры вируснейтрализующих антител и антигемагглютининов существенно не изменяются, в особенности у животных старше 3–4 лет. Такое явление может объясняться быстрым снижением титров антител после очередного контакта животных с вирусом КЭ. Это подтвердилось сравнительным анализом интенсивности показателей гуморального иммунитета у положительных и отрицательных по РСК оленей, т.е. у животных, контактировавших с вирусом в текущем сезоне, по сравнению с оленями, которые скорее всего в данный весенне-летний период КЭ не заражались. Во всех возрастных группах у первых титр антител, как правило, был несколько выше, чем у вторых (Коренберг и др., 1975).

От полунапитавшихся клещей *I. persulcatus*, снятых с оленей, выделены 4 штамма вируса КЭ: 2 от взрослых и 2 от нимф. Животные, с которых были сняты клещи, имели антитела: Ig нейтрализации их сывороток составлял от 1,76 до 5,66, а титры антигемагглютининов — от 1:40 до 1:1280. Поскольку питание на иммунных позвоночных не освобождает клещей от вируса (Думина, 1958; Venda, 1958; Карганова, 2008), можно думать, что членистоногие были зараженными еще до их нападения на оленей. Не меньше оснований предполагать, что клещи получили вирус от оленей при кровососании, т.к. высокий уровень показателей гуморального иммунитета не является препятствием (по крайней мере, у людей) для вирусемии (Левкович и др., 1960, 1967; Медведева, Осинцева, 1969 и др.). Эти факты свидетельствуют о том, что антитела в крови у крупных диких млекопитающих сами по себе не являются препятствием для циркуляции вируса КЭ, и следовательно не могут быть поводом для отрицания важной роли животных в эпизоотологии клещевого энцефалита, как это трактуется в литературе по эпизоотологии КЭ (Шилова, 1960; Морозов, 1961; Блашкович, 1966; Никифоров, 1968; Blašković and Nosek, 1972). Длительно живущие млекопитающие, способные к многократной даже кратковременной вирусемии или способствующие иным способам горизонтальной передачи вируса (раздел 2.4.3), могут иметь первостепенное значение в качестве его источника для большого количества прокармливаемых на них взрослых клещей и их непосредственного потомства (Коренберг, 1979б). Даже если согласиться с недоказанным представлением о том, что крупные животные

не могут быть донорами вируса для клещей, их роль в поддержании существования возбудителя КЭ должна быть очень важна, поскольку в зараженном клеще после его насыщения происходит интенсивное размножение вируса (Benda, 1958, 1958a). В природном очаге эта группа животных определяет многолетнее существование пятен устойчиво высокой численности клещей, в пределах которых наблюдается и наиболее интенсивная зараженность членистоногих, т.е. ядер очага (Коренберг, 1979; раздел 2.4.6). Именно паразитирование взрослых иксодовых клещей на крупных животных, по всей видимости, было основной предпосылкой и условием становления специфичности отношений вируса КЭ с млекопитающими (Чунихин, 1973a). Исходя из изложенного, суждения о значении взаимоотношений оленей и мелких млекопитающих как прокормителей клещей для эпизоотологии КЭ, основанные на априорном положении о «некомпетентности» крупных млекопитающих как резервуарных хозяев вируса КЭ (Bolzoni et al., 2012; Cagnacci et al., 2012), представляются односторонними и малоубедительными.

Возможное значение скота в эпидемиологии КЭ рассмотрено в разделе 2.5.1.

2.4.2. Цикл развития основных переносчиков и жизненная схема вируса

Популяции микроорганизмов, их специфических переносчиков и резервуарных хозяев представляют собой экологическую систему, которая функционирует во времени и пространстве как целостная трехчленная паразитарная система (раздел 1.3). Тем не менее для каждого компонента этой триады характерны особые реакции на воздействие абиотических и биотических факторов среды обитания (Балашов, 2009, 2010, 2012). Популяции микроорганизма и его специфического переносчика можно рассматривать как экологическую «подсистему». Так, жизненная схема вируса КЭ теснейшим образом связана, как бы «вложена» в жизненные схемы двух видов иксодовых клещей — его основных переносчиков и хранителей (Коренберг, 1989; Вотяков и др., 2002).

Клещам *I. persulcatus* и *I. ricinus* свойственен пастбищно-подстерегающий тип нападения на прокормителей (Беклемишев, 1945, 1954). Для них характерен длительный жизненный цикл развития: имаго–яйцо–личинка–нимфа–имаго. Одна генерация клещей рода *Ixodes* включает 4 фазы развития (от яйца до имаго). Каждая активная фаза развития имеет свой набор прокормителей (раздел 2.4.1). После насыщения клещ покидает хозяина, при благоприятных условиях развиваясь, превращается в голодную особь следующей фазы развития, которая для продолжения цикла развития должна попасть на другого хозяина и напитаться на нем (т.е. развитие происходит со сменой хозяина, по треххозяинному типу). Суммарное время питания всех трех фаз развития составляет не более 12–15 суток, которыми ограничивается паразитическое существование таежного и лесного клещей. Переход из одной фазы в другую занимает на большей части ареала таежного клеща не менее одного года, а полный цикл развития продолжается минимум почти 3 года (см. ниже). Таким образом подавляющую часть времени эти клещи ведут

непаразитическое существование, причем каждая фаза развития представляет собой отдельную гемипопуляцию, связанную с определенной микросредой обитания и специфично реагирующую на весь набор ее абиотических и биотических факторов. Каждая гемипопуляция состоит из особей разного возраста, и поэтому в целом структура популяции клещей чрезвычайно сложна (Балашов, 2012).

У иксодовых клещей различают их физиологический, календарный и абсолютный возраст. Понятие «физиологический возраст» отражает состояние запаса (степень расходования) питательных веществ в организме клеща (Балашов, 1961, 1962, 1967, 2012; Разумова, 1982; Репкина, 1985; Uspensky et al., 2006; и др.). Зная скорость расходования запасных питательных веществ или (и) связанные с этим процессом темпы изменений, происходящих в некоторых тканях клеща, можно установить календарный возраст особи, под которым понимают продолжительность времени, прожитого ею в определенной фазе, начиная с момента линьки на данную фазу (Балашов, 1962, 2012; и др.). Сроки жизни голодных особей определяются потерями их пищевых резервов и другими необратимыми изменениями в их организме, которые в значительной степени зависят от сочетания условий температуры и влажности. Для разных фаз развития они варьируют от нескольких дней (у голодных личинок; см. ниже) до 1 года и более (Балашов, 1998, 2012). С помощью этого критерия можно охарактеризовать не возрастной состав популяции (в обычной общепринятой трактовке этого понятия), а степень неоднородности гемипопуляции (совокупности особей одной фазы развития) по признаку продолжительности жизни различных особей в данной фазе. Поэтому время, прожитое в общей сложности конкретной особью в активном и пассивном состоянии во всех фазах развития, начиная с появления яйца, предложено называть абсолютным возрастом членистоногих (Коренберг, 1974).

Для жизненной схемы клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* характерна, с одной стороны, растянутость во времени определенных ее этапов, например периода вероятной встречи каждой фазы развития с прокормителем, а с другой стороны — довольно жесткая синхронизация возможного перехода в следующую фазу развития и начала ее активности. Так, начало яйцекладки у *I. persulcatus*, независимо от срока насыщения самок клеща, по всему ареалу происходит практически почти одновременно в середине лета: с середины июня до примерно середины июля (Бабенко, 1985). Это достигается за счет значительной вариабельности периода овогенеза (Балашов, 1967), который в европейских южнотаежных лесах составляет от 2–3 дней (у особей, нашедших прокормителя близко к середине лета), до 40–50 дней у самок, напитавшихся уже весной (Жмаева, 1969). Однако яйца у самки созревают неодновременно, и процесс яйцекладки растянут во времени. Успех развития появившихся яиц сильно зависит от условий температуры и влажности. Яйца, не успевшие закончить развитие до наступления холодов, как и самки таежного клеща, нашедшие хозяина во второй половине лета и не успевшие «к положенному сроку» отложить яйца, обычно погибают во время зимовки (Бабенко, 1985).

Личинки появляются из развившихся яиц уже во второй половине лета — осенью, но активируются после личиночного доразвития весной следующего года. В условиях

среднетаежных лесов Хабаровского края, например, в разные годы и в разных биотопах сезон активности личинок в целом начинается в одни те же сроки (в последней декаде мая). Но в пределах одного биотопа сроки появления личинок из разных кладок (личиночных пятен) растягиваются примерно на месяц и не зависят от даты насыщения в первой половине лета прошлого года самок, от которых произошла яйцекладка. Период активации личинок в одном пятне (из одной яйцекладки) составляет 35–40 дней и не зависит от общего числа активировавшихся в нем клещей. Более позднее появление личинок в «пятне» обычно приводит к некоторому сокращению периода его существования, а не к смещению на более поздний срок окончания активации клещей. Из одной кладки в среднем появляется до 400–500 личинок. Продолжительность активной жизни голодной личинки в естественных условиях мала и, видимо, составляет 3–5 дней. Поэтому сроки существования личиночных «пятен» определяются характером динамики активации. Самостоятельные горизонтальные перемещения личинок обычно не превышают 1,5 м от места их вылупления (Коренберг, Левин, 1983; Левин, 1987). Личинки — это самая уязвимая фаза в цикле развития клещей, которой свойственна наибольшая гибель (Балашов, 2012).

Личинки, успешно напитавшиеся в первую половину лета и попавшие после отпадения от прокормителя в благоприятные условия микросреды, к осени перелинивают в нимф, которые активируются весной следующего года, т.е. на второй год от начала цикла развития. У личинок этой же генерации, нашедших прокормителя во вторую половину лета, наступает личиночная диапауза, позволяющая им сохраниться в лесной подстилке при неблагоприятных зимних условиях, но задерживающая цикл развития на целый год, поскольку произошедшие от них голодные нимфы активируются вместе с нимфами, произошедшими от удачно развивавшихся личинок следующей генерации, т.е. на третий год от начала цикла развития. Аналогичная ситуация может происходить с поздно напитавшимися нимфами, которые впадают в нимфальную диапаузу, удлиняя цикл развития еще на один год. Личиночная и нимфальная диапаузы факультативны, а их наступление осуществляется фотопериодической реакцией клещей на длину дня. Кроме того, взрослым *I. persulcatus* свойственна облигатная генетически детерминированная поведенческая диапауза, наступление которой предотвращает их послеличную активацию в осенний период, спасая тем самым клещей, которые могли бы напитаться в этот период, от гибели в холодное время года (Белозеров, 1985; Коротков, Кисленко, 1991), но также приводящая к продлению цикла развития какой-то части генерации.

Итак, в цикле развития *I. persulcatus* у некоторой части клещей одной генерации, оказавшихся в определенных неблагоприятных условиях, могут происходить личиночная или (и), нимфальная или (и) имагинальная диапаузы, каждая из которых удлиняет цикл развития на один год, причем диапауза сытых личинок и нимф наблюдается на всем протяжении ареала вида. Считается, что диапаузировать и перезимовывать способны также голодные личинки, нимфы и половозрелые особи этого вида (Белозеров, 1985). Для личинок нельзя исключить такую возможность, но, принимая во внимание сезонную динамику их активации и не-

продолжительность жизни голодных особей (см. выше), следует, видимо, признать, что ее вероятность мала и не имеет заметного значения для существования популяции этого переносчика в целом. Возможность перезимовывания в голодном состоянии имеет более существенное значение для нимф и имаго, если исходить из сезонных особенностей изменения их активности, хотя продолжительность жизни поздно активировавшихся клещей гораздо меньше, чем у активировавшихся в начале весенне-летнего сезона (Бабенко, 1985; раздел 2.5.4).

Таежные клещи, произошедшие из одной яйцекладки, в зависимости от складывающегося для разных особей сочетания условий могут подойти к фазе имаго (т.е. завершить цикл развития) с разрывом в несколько лет. В южнотаежных лесах востока Русской равнины, например, цикл развития *I. persulcatus* может продолжаться от 3 до 6–7 лет, причем по минимальному и максимальному по продолжительности циклу развивается незначительная часть клещей, оказавшихся в первом случае в чрезвычайно благоприятных условиях, а во втором — неоднократно испытывавших неблагоприятное сочетание биотических и абиотических факторов (Жмаева, 1969). Таким образом, получается, что гемипопуляция имаго может в данном регионе состоять из клещей, абсолютный возраст которых равен 3, 4, 5 и более годам, но ее основу составляют 4–5-летние особи. С другой стороны, клещи одного абсолютного возраста могут находиться на разных фазах развития: 3- и 4-летние особи, например, могут здесь быть нимфами или имаго. Если говорить об ареале таежного клеща в целом, то теоретически каждая особь может развиваться по одному из 14 вариантов (рис. 2.6.). Но фактически для каждого региона в зависимости от его климатических

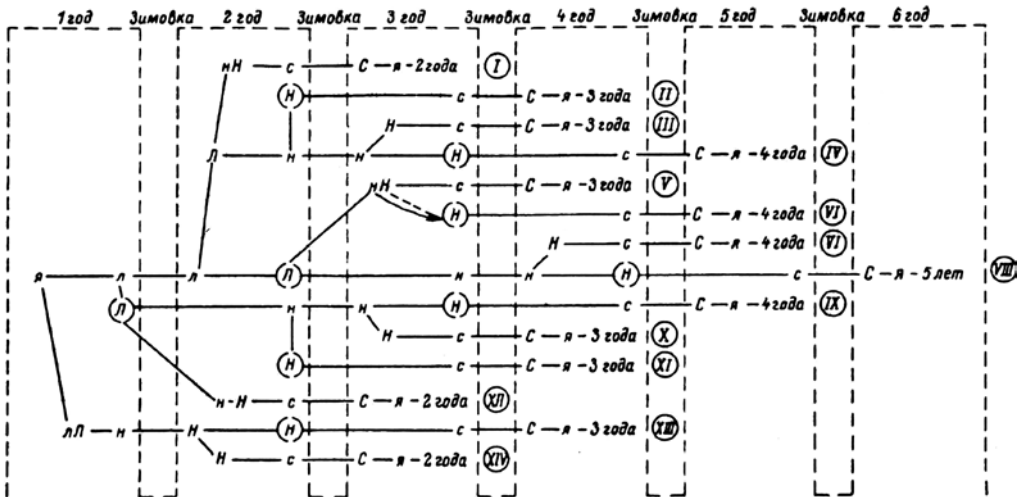


Рис. 2.6. Схема вариантов продолжительности цикла развития таежного клеща (Шашина, 1985).
Условные обозначения: а — яйца; л, н. — голодные личинки и нимфы; Л, Н. — сытые личинки и нимфы; (Л), (Н) — диапаузирующие сытые личинки и нимфы; с — неактивные самки и самцы; С — активные самки, самцы и сытые самки. Римскими цифрами в кружках обозначены варианты развития.

условий характерны несколько из этих вариантов развития клещей одной генерации, причем доля особей в популяции, развивающихся по каждому из них, может меняться в разные годы в связи с погодными условиями весенне-летнего периода. Завершение частью генерации цикла развития за 2 года возможно только на юге Дальнего Востока, где в оптимальных для этого вида условиях длительной теплообеспеченности и влажности у сытых личинок и нимф иногда могут отсутствовать диапаузы, а в течение одного теплого сезона успевают закончить развитие клещи двух фаз: яйца и личинки или личинки и нимфы (Шашина, 1985).

В отличие от таежного клеща, у которого яйца всегда развиваются без диапаузы и не могут перезимовывать, для *I. ricinus* характерна факультативная яйцевая (эмбриональная) диапауза. Кроме того, у этого вида могут перезимовывать не только голодные, но и напитавшиеся самки (Белозеров, 1985). У голодных особей всех фаз развития может наступить поведенческая диапауза, благодаря которой они способны переживать около года. В остальном жизненный цикл *I. ricinus* близок к таковому у *I. persulcatus* и может продолжаться от 3 до 6 лет. В южных частях ареала у *I. ricinus* развитие может происходить в течение двух лет (Gray, 1991; Randolph, 2004; Nuttall, 2011).

Вирус КЭ практически пожизненно сохраняется во всех фазах как сытых, так и голодных *I. persulcatus* и *I. ricinus* и может перезимовывать в них, что делает этих клещей не только переносчиками, но и длительными хранителями, а также резервуаром возбудителя в природе (Шубладзе, Сердюкова, 1939; Чумаков, 1944; Чумаков, Найденова, 1944; Benda, 1958, 1958a; Rehaček, 1960, 1962; и др.). По ходу метаморфоза переносчиков он может передаваться трансвариально, а также от одной фазы развития к другой или утрачиваться. Клещи заражаются также тем или иным путем при питании на прокормителях (раздел 2.4.3.). Совершенно очевидно, что чем быстрее происходит их цикл развития, тем интенсивнее реализуются различные пути передачи вируса и осуществляется его пассирование в естественных условиях. Показано, что вирус КЭ размножается более интенсивно в организме клещей *I. ricinus*, развивающихся без диапаузы (Мишаева, Ерофеева, 1979). По мнению Г. Г. Каргановой (2008), длительность пребывания вируса КЭ в клещах может оказывать влияние на его вирулентность. Весьма вероятно, что именно кратковременные циклы развития *I. persulcatus* в южной части Дальнего Востока — одна из главных «загадочных» причин особой вирулентности возбудителя в этом регионе, приводящей, как известно, к наибольшему во всем нозоареале распространению тяжелых очаговых форм КЭ и летальных исходов (раздел 2.6). Во всяком случае, по данным Г. Н. Леоновой и О. С. Майстровской (1996), на юге Дальнего Востока взрослым клещам, которые перелиняли в конце лета–начале осени из напитавшихся нимф, не свойственна поведенческая диапауза. Они сразу активизируются и передают вирус КЭ в 100 % случаев.

Вместе с тем из-за длительности жизненного цикла и его значительной вариабельности совокупность особей переносчиков КЭ «... даже одной фазы развития представляет собой сложный комплекс особей, принадлежащих к разным генера-

циям» (Бабенко, Рубина, 1968, С. 165). Иными словами, гемипопуляции переносчиков в целом и их части, состоящие из совокупности голодных и сытых особей одной фазы развития, практически всегда и почти повсеместно имеют разновозрастный состав. Следовательно, «микрорпопуляции» вируса, которые на протяжении одного весенне-летнего сезона содержатся в клещах даже одной фазы, могут отличаться друг от друга по своему происхождению, предшествовавшей судьбе и свойствам (Коренберг, 1970, 1974).

В природных очагах происходят два процесса, связанных с развитием клещей, которые имеют противоположное воздействие на вирусную популяцию. Так, соотношение числа голодных личинок, нимф и имаго в потомстве одной генерации *I. persulcatus* составляет примерно 240:40:1 (Коренберг, Ковалевский, 1977). У *I. ricinus* в Англии менее 1% клещей всей генерации доходят до имаго, отложивших яйца (Craine et al., 1995). Поэтому в каждой генерации клещей из-за их естественной смертности, происходящей по мере осуществления цикла развития, абсолютное число инфицированных особей постепенно уменьшается (Коренберг, Ковалевский, 1977). Вместе с тем в организме отдельно взятого зараженного клеща, которому удалось пройти от голодной личинки до напитавшейся взрослой особи, концентрация вируса, видимо, в той или иной мере постепенно нарастает, благодаря его размножению после насыщения каждой последующей фазы (Korenberg, 1976; Коренберг, 1979б). Это достоверно установлено для имаго (Шубладзе, Сердюкова, 1939; Павловский, Соловьев, 1940; Benda, 1958; Libikova et al., 1964; Мишаева, 1976; Коренберг, Пчелкина, 1984), и нет причин отрицать такую возможность для предимагинальных фаз. Таким образом, хотя при перелинивании из одной фазы в другую происходит некоторая утрата вируса (Benda, 1958; Мишаева, 1976), в целом по ходу метаморфоза клеща имеет место его накопление (Benda, 1958; Катин и др., 1959; Kožuch et al., 1970).

Гипотеза о том, что успех инфицирования голодных клещей, скорость и степень интенсивности размножения вируса в их организме и следовательно, успех его трансфазовой и трансвариальной передачи при прочих равных условиях зависит от физиологического возраста этих членистоногих (Коренберг, 1974; Korenberg, 1976), подтверждена экспериментально (Мишаев, 1985; Мишаева, Вотяков, 1978; Алексеев и др., 1988; Мишаева и др., 1990; Разумова и Алексеев, 1991).

2.4.3. Вертикальная и горизонтальная передача вируса

Под вертикальной передачей микроорганизма понимают его способность передаваться в процессе развития переносчика от одной фазы к другой (трансвариально, трансфазово), а под горизонтальной передачей — передачу микроорганизма тем или иным способом через резервуарных хозяев или контактным путем. Таким образом, вертикальная передача вируса КЭ неразрывно связана, прежде всего, со сложным и длительным циклом развития клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*, а горизонтальная — с обязательной сменой хозяев по ходу метаморфоза, способностью каждой фазы развития нападать и питаться на позвоночных животных

разных видов (Павловский, 1947; Коренберг, 1983), многие из которых в той или иной степени восприимчивы к этому вирусу (разделы 2.4.1 и 2.4.2).

По поводу трансвариальной передачи вируса КЭ клещами были высказаны самые разные и даже взаимоисключающие взгляды: от отрицания ее возможности (van Tongern, 1959) до возведения этого феномена в абсолют (Чумаков, 1944; Петрищева, 1958). Принципиальная возможность трансвариальной передачи вируса КЭ сейчас представляется бесспорной (Danielová et al., 2002). Однако ее реализация, как это известно, и для некоторых других арбовирусов и риккетсий, видимо, происходит лишь при высокой концентрации возбудителя в гемолимфе взрослого клеща, достаточной для преодоления «яйцевого барьера» (Rehaček, 1962). После заражения самок *I. persulcatus* путем их кормления на инфицированных лабораторных животных наблюдалось увеличение титра (размножение) вируса с 2 примерно до 5–7 lg LD₅₀, а затем его уменьшение. Но непосредственно перед яйцекладкой содержание вируса было на 1–1,5 lg больше, чем сразу после заражающего кормления (Коренберг, Пчелкина, 1984). По данным исследования яиц зараженных самок (Benda, 1958; Корзухина, 1967) и по результатам проверки голодных личинок (Шубладзе, Сердюкова, 1939; van Tongern, 1959; Rehaček, 1962) частота трансвариальной передачи вируса варьирует в эксперименте в весьма широком диапазоне (от 0 до 100 % случаев) в зависимости от его дозы, находящейся в организме самки (Кондрашова, 1970; Кондрашова, Филипповец, 1970; Каленчук, Мишаева, 1976). С ее уменьшением до 0,5–1,5 lg LD₅₀ число клещей, сохранивших вирус, и их способность передавать его трансвариально уменьшаются (Алексеев, Кондрашова, 1985). Но в природе, даже когда голодные самки содержат или получают во время кровососания большую дозу вируса, его трансвариальная передача у *I. persulcatus* по всей видимости осуществляется лишь при условии, что от момента кормления клеща до начала яйцекладки проходит какой-то срок, необходимый для достаточного накопления вируса в гемолимфе и органах размножения клеща. Его продолжительность не установлена, но можно предполагать, что вероятность трансвариальной передачи вируса клещами, накормившимися в начале лета и имевшими длительный период овогенеза, больше, чем у клещей позднего насыщения (Жмаева, Пчелкина, 1967; Korenberg, 1976; Коренберг, 1979б; раздел 2.4.2). Так, таежные клещи, получившие в эксперименте вирус в конце цикла питания, к началу яйцекладки в 50 % случаев были свободны от него (Алексеев, Кондрашова, 1985). Возможность реализации этого феномена клещами зависит от их состояния и физиологического возраста (Мишаева и др., 1974; Кондрашова, Котельникова, 1975), а интенсивность размножения или гибели вируса КЭ в организме клещей существенно зависит от окружающей температуры и влажности (Мишаева, 1974, 1975, 1976; Мишаева и др., 1974а). Анализ перечисленных и других публикаций позволил предположить, что в естественных условиях вирус передают трансвариально примерно 25 % зараженных самок, но и в этих случаях далеко не вся яйцекладка оказывается инфицированной. Кроме того, судя по результатам опытов, вирус Повассан, например, может попадать

не внутрь, а только на поверхность яйца непосредственно перед самой откладкой вместе с обволакивающим его восково-липоидным водонепроницаемым секретом, выделяемым органом Женэ. Вирус, обнаруживаемый при обычном исследовании таких яиц, по всей видимости, не влияет на зараженность развивающихся из них личинок. Представляется вероятным, что в каждой инфицированной кладке бывает заражено около 25 % яиц. Процесс развития яиц и формирования личинок, по мнению некоторых исследователей (Кондрашова, 1969; Кондрашова, Филипповец, 1970; Мишаева, 1976а), весьма неблагоприятен для сохранения вируса, и часть зараженных яиц при этом несомненно его утрачивает. До сих пор отсутствуют достоверные данные, которые позволяют оценить масштаб этого явления, но есть некоторое основание предполагать, что вирус сохраняется и передается личинкам примерно от 60 % зараженных самок (Коренберг, Ковалевский, 1977). Однако при трансвариальной передаче происходит резкое падение титра вируса (Benda, 1958; Кондрашова, Филипповец, 1970; Мишаева, 1976б). Содержание вируса в яйцах крайне мало. Обычными вирусологическими методами зачастую его удавалось обнаружить не в самих яйцах, а лишь у полученных из них голодных личинок (Ягодинский, Александров, 1964), причем титр вируса может оказаться у них выше, чем в яйцах (Benda, 1958). Это свидетельствует о том, что некоторое размножение вируса может происходить уже в период послелинчного доразвития личинок (Мишаева и др., 1974а).

Каждая инфицированная голодная личинка содержит очень небольшую дозу вируса (Кондрашова, Филипповец, 1970; Чунихин, Леонова, 1985). Личинки плохо воспринимают вирус КЭ и часто освобождаются от него (Алексеев, Кондрашова, 1985), что, кстати, нужно принимать во внимание при оценке значения обсуждаемой ниже так называемой безверемической передачи вируса. Период пребывания вируса в личинках *I. persulcatus* и *I. ricinus* — это, очевидно, наиболее критический этап его «жизненной схемы». В экспериментах передача вируса КЭ от личинок к нимфам у *I. ricinus* отмечена в 40–100 %, а от нимф к имаго — примерно в 75 % случаев (Benda, 1958, 1958а; Rehaček, 1962).

«Эстафетная» передача вируса КЭ от одного позвоночного животного другому невозможна. Его горизонтальная передача, при которой увеличивается число зараженных клещей, с разной степенью вероятности может происходить несколькими путями. По ходу эпизоотического процесса в полной мере реализуется трансмиссивный путь передачи вируса, причем восприимчивые прокормители клещей по многократно постулированным представлениям могут быть как его реципиентами (раздел 2.4.1), так и донорами. В последнем случае резервуарный хозяин вируса теоретически может способствовать его передаче, которую некоторые исследователи предлагали называть «медиаторной», от личинок — личинкам, чаще от нимф — нимфам или личинкам, кормящимся вместе с ними, от нимф к имаго, а также с равной или даже большей вероятностью от имаго — нимфам (Коренберг и др., 1975; раздел 2.4.1). Содержание вируса в напитавшихся клещах зависит от интенсивности вирусемии у животных-доноров (Думина, 1958; Кондрашова,

1969, 1970; Кондрашова, Котельникова, 1975; Коренберг, Пчелкина, 1984). Пороговый уровень концентрации вируса в крови прокормителя, при котором заражаются 1–5 % напитавшихся клещей, составил в эксперименте для личинок таежного клеща 1,5–2,5 lg LD_{50/0,03} (для двухдневных белых мышей), а для нимф — 1,8–2,5 lg LD₅₀, но для дальнейшей циркуляции вируса это не имеет значения, поскольку такие клещи не способны к его передаче следующей фазе развития. Чем выше титр вируса в крови донора, тем больше личинок и нимф заражаются на нем при кровососании. 100 % личинок заражались при уровне вирусемии равном 6,4–7,8 lg LD₅₀ (Куренков и др., 1981; Чунихин, Леонова, 1985). По мнению этих авторов все или почти все личинки и нимфы, накормленные на животных с вирусемией 2,7–3 lg LD₅₀ и выше передают его особям следующей фазы развития, которые, будучи голодными, способны к его дальнейшей трансмиссивной передаче, а клещи, зараженные на животных с вирусемией ниже примерно такого уровня, были не способны к трансфазовой передаче вируса, и следовательно не поддерживали его дальнейший трансмиссивный цикл. Это положение несколько противоречит данным самих авторов (Чунихин, Леонова, 1985; С. 67) в соответствии с которыми «... в 100 % случаев трансмиссивная передача вируса клещевого энцефалита нимфами и самками таежного клеща наблюдалась тогда, когда заражение личинок происходило на животных с вирусемией 6,4–7,8 lg LD_{50/0,03}», причем уровень трансмиссивной передачи заметно падал при снижении интенсивности заражающей вирусемии. В разных экспериментах в зависимости от конкретных условий их проведения могут быть получены заметно различающиеся конкретные показатели титров вируса, при которых происходила его передача от позвоночного-донора клещам-реципиентам или наоборот, а также трансфазовая передача. Но, так или иначе, ясно, что в природных очагах эти процессы могут происходить далеко не во всех случаях, а их успех в наибольшей степени зависит от концентрации вируса в организме передающей его особи.

Горизонтальная передача вируса незараженным клещам от зараженных может происходить, как впервые установил В. Р. Галимов с соавторами (1989), при их одновременном паразитировании даже в отсутствии вирусемии у их хозяев. Эта краткая тезисная публикация довольно долго оставалась незамеченной, и все «лавры» столь важного открытия и в нашей стране (Алексеев, Чунихин, 1990, 1991, 1992; Алексеев, 1993), и чуть позднее в еще большей степени за рубежом (Labuda at al., 1993, 1993a, 1993b; Randolph et al., 1996) достались другим исследователям, которые обосновали его, экспериментируя с *I. persulcatus*, *I. ricinus* и некоторыми другими видами иксодовых клещей. Такая передача вируса названа безвиремической (Labuda at al., 1993c). Было показано, что незараженный клещ может получать вирус от зараженного, если они одновременно питаются на прокормителе, находясь на некотором расстоянии друг от друга, причем вирус продельывает этот путь по кожным дендритным клеткам Лангерганса (Labuda at al., 1996; Nuttall and Labuda, 2003). Такая безвиремическая передача получила название дистантной (Алексеев, Чунихин, 1991, 1992). Этот эффект наблюдался и в тех случаях, когда

экспериментальное кормление клещей было проведено на диких мелких млекопитающих, предварительно иммунизированных вирусом КЭ (Labuda et al., 1997), и на зайцах беляках, на которых кормили клещей, зараженных и не зараженных вирусом louping ill (Jones et al., 1997).

Если незараженный клещ начинает питание в том же самом месте, где ранее прикрепилась зараженная особь, он может получить вирус, всасывая ее слюну вместе с тканевыми жидкостями прокормителя. Этот путь передачи вируса предложено называть транспиальным (Алексеев, Чунихин, 1990, 1992). К числу горизонтальных следует также отнести экспериментально доказанную передачу вируса КЭ половым путем со спермой зараженного самца незараженной самке. У самцов *I. persulcatus* вирус был обнаружен в сперматоцитах и сперматидях. Самки получали его при копуляции в половине случаев и передавали трансвариально, причем инфицированными оказались около 10 % голодных личинок 1-го поколения (Чунихин и др., 1983; Чунихин, Леонова, 1985; Alekseev, 1991).

Разнообразие возможных путей передачи вируса КЭ, на которое обращал внимание Е. Н. Павловский (1947), свидетельствует о его адаптивной пластичности и, наряду с другими важными факторами (раздел 2.3), способствует объяснению причин широкого распространения и устойчивости существования природных очагов. Вместе с тем представляется весьма вероятным, что в паразитарных системах этого вируса, которые находятся в различных географических условиях, и даже в одном очаге, в разные годы в связи с меняющимися биотическими (например колебаниями численности всех фаз развития клещей и их прокормителей) и абиотическими (например погодными особенностями конкретного весенне-летнего периода) условиями удельное значение того или иного пути передачи вируса может быть существенно различным. Не исключена возможность короткого пути обмена вирусом между разными генерациями клещей, при котором он передается незараженным нимфам от имаго или имаго от нимф при их одновременном кровососании на крупных диких млекопитающих. Сегодняшние представления о значении того или иного пути передачи вируса КЭ во многом основаны на результатах лабораторных экспериментов. Функционирование этих путей и значение в поддержании реальных многолетних эпизоотических циклов в природных очагах пока остается не выясненным. Поэтому нет оснований придавать дистантному пути передачи вируса главенствующее значение в поддержании эпизоотического процесса (раздел 2.4.5), как это делают некоторые авторы (Randolph et al., 1999, Алексеев, Чунихин, 1992; Nuttall, 2011; Randolph, 2011; Süss, 2011).

2.4.4. Зараженность и индивидуальная инфицированность клещей

Для оценки эпизоотического состояния и потенциальной опасности природных очагов ТВЕ были предложены различные показатели. Наиболее важными из них справедливо считают численность клещей и степень их зараженности вирусом (Никифоров и др., 1963; Бабенко и др., 1967; Nosek et al., 1970; Коренберг,

1981). Под последней обычно имеют в виду процент зараженных особей (в англоязычной литературе — prevalence).

Чтобы получить данные о зараженности клещей примерно до середины–конца 80-х годов, их суспензию (одного клеща или пулов) чаще всего инокулировали чувствительным к вирусу КЭ белым мышам, а позднее использовали для этого клеточную культуру. (Эти методы многократно описаны в руководствах и рекомендациях по вирусологической лабораторной работе). Были накоплены обширные данные, которые позволили подсчитать зараженность взрослых *I. persulcatus* и *I. ricinus* в различных частях нозоареала КЭ (Жмаева и Пчелкина, 1967; Наумов, Гугова, 1977). Анализ этих данных выявил важную общую закономерность: почти повсеместно от Приморья до европейской части ареала вируса зараженность клещей весьма сходна и чаще всего (с определенными для каждого региона колебаниями по годам) не превышает 1–3% (Коренберг, Ковалевский, 1977). Лишь в некоторых низкоргорных хвойно-широколиственных лесах Дальнего Востока (Верета, 1975; Леонова, 1997), на сравнительно ограниченных территориях в пределах Средней и Западной Сибири, а также в Приуралье (Мелентьева, 1965; Окулова и др., 1973; Нецкий и др., 1973; Ковалевский и др., 1989; и др.) этот показатель может достигать до 10–15%. Более высокая вирусифорность клещей — редкое исключение. Зараженность *I. persulcatus* обычно выше, чем *I. ricinus* (Süss, 2011).

Давно (Нецкий и Богданов, 1966) существует распространенное до сих пор мнение, что относительная зараженность клещей коррелируют с показателями их численности, и уровень зараженности клещей тем выше, чем выше их численность. Однако репрезентативные данные, полученные в результате многолетних максимально стандартизованных наблюдений, обычно четко показывают, что колебания зараженности клещей слабо связаны с изменениями их численности. Так, коэффициент корреляции (r) между зараженностью клещей *I. persulcatus* и их относительной численностью (abundance) составляет в разных регионах всего от 0,11 до 0,59, а в некоторых случаях отмечена даже обратная зависимость между этими показателями (Ковалевский и др., 1988). Тем не менее показатели вирусифорности клещей, полученные указанными выше не слишком чувствительными методами, позволяли более или менее адекватно судить о динамике эпизоотического процесса. К настоящему времени, после практически всеобщего перехода к анализу вирусифорности клещей гораздо более чувствительными ИФА, т.е. иммуноферментным (Методические рекомендации..., 1986) и ПЦР методами, ситуация принципиально изменилась. Относительные показатели зараженности клещей почти везде и всегда «зашкаливают» за десять–двадцать и более процентов (Мельникова и др., 1996; Онищенко и др., 2007 и др.), поскольку ИФА и ПЦР способны «улавливать» незначительное накопление вируса, которое в результате сложных процессов его вертикальной и горизонтальной передачи могут содержать многие клещи, но которое не имеет сколько-нибудь существенного значения для его дальнейшей циркуляции (раздел 2.4.3). В Латвии, например, процент взрослых *I. persulcatus*, у которых детектирован вирус КЭ, достигает до 37,3

(Bormane et al., 2004). Можно по-разному относиться к таким данным, но важно четко понимать, что они совершенно несопоставимы с показателями, полученными до «эры» ИФА. В любом случае процент зараженности клещей (или других животных) возбудителем плохо отражает эпизоотическое состояние очага, поскольку по сути дела это лишь качественный показатель, который не позволяет судить о количестве возбудителя в инфицированных особях (Коренберг, 1985а; Коренберг и др., 1986; Korenberg and Kovalevskii, 1999).

Совершенно очевидно, что в любом природном очаге КЭ среди голодных клещей имеются зараженные и незараженные особи. Они могут получать вирус разными путями и на разных фазах развития (Коренберг и Пчелкина, 1984; Карганова, 2008). Степень инфицированности и дальнейшая судьба вируса в отдельно взятой особи переносчика зависят от напряженности вирусемии у животных-прокормителей, от исходного уровня инфицированности голодного клеща, от его абсолютного возраста и физиологического состояния, а также от конкретных абиотических условий, в которые он попадает на продолжительном пути своего развития и метаморфоза (раздел 2.4.3). Степень инфицированности свежеективировавшихся взрослых *I. persulcatus* в разные периоды весенне-летнего сезона примерно одинакова (Коренберг и др., 1988). Меньшая зараженность клещей, отмеченная во второй половине лета (Унанов и др., 1965; Катин, 1983; Окулова, 1986; и др.), по всей видимости связана с потерей вируса давно активировавшимися и длительно живущими особями соответствующего физиологического возраста. Клещи, будучи зараженными до насыщения, видимо, могут получать дополнительно определенную дозу вируса («подзаражаться») при кровососании в момент вирусемии у их прокормителя. Комбинации этих вариантов, в конечном счете, в свою очередь определяют возможность дальнейшей горизонтальной и вертикальной передачи вируса, причем его доза (т.е. степень инфицированности клеща) имеет важнейшее значение для реализации этих процессов. Иными словами, в природных очагах при реальном взаимодействии популяций трехчленной паразитарной системы, которое происходит при постоянном влиянии абиотических факторов, складывается множество комбинаций условий, влияющих на возможность размножения и сохранения ТВЕ вируса в конкретной особи переносчика. Поэтому в любом природном очаге титры вируса, т.е. степень инфицированности как голодных (табл. 2.3), так и напитавшихся клещей (табл. 2.4), варьирует в широких пределах: у взрослых голодных клещей она может отличаться в сотни миллионов раз (Баннова и др., 1984, 1991; Коренберг и Пчелкина, 1984; Коренберг 1985а; Коренберг и др., 1986, 1988). Таким образом, внутривидовые различия в степени инфицированности особей переносчика — это нормальное и закономерное явление. Клещи, содержащие различные дозы вируса, по всей видимости (раздел 2.4.3), принимают не одинаковое участие в его вертикальной и горизонтальной передаче и имеют существенно различное эпидемиологическое значение. В конечном счете это определяет качественную (клональную) и функциональную неоднородность вирусной популяции, на которую более по-

лувека назад обращал внимание исследователей В. Н. Беклемишев (1959). Кроме того, клинически выраженные заболевания КЭ, по всей видимости, развиваются у лиц, покусанных переносчиком, содержащим высокую дозу вируса (Ковалевский, Коренберг, 1990).

Таблица 2.3. Доля зараженных особей разного пола и количество вируса у одного клеща *I. persulcatus* (Коренберг и др., 1988)

Последовательные годы	Самки					Самцы				
	Число исследованных	% зараженных	Количество вируса (lg бляшкообразующих единиц на мл)			Число исследованных	% зараженных	Количество вируса (lg бляшкообразующих единиц на мл)		
			Минимум	Максимум	В среднем			Минимум	Максимум	В среднем
A	217	6,9	2,0	7,38	6,21	203	4,9	2,0	5,9	5,13
B	443	3,8	2,0	7,6	6,55	382	2,9	2,0	6,6	5,87
C	311	9,6	2,0	6,6	5,15	262	12,2	2,0	7,1	5,96
D	754	8,3	2,0	8,93	7,28	781	6,0	2,0	9,67	8,0

Таблица 2.4. Титры вируса КЭ у спонтанно зараженных самок, накормленных на лабораторных животных (Коренберг, Пчелкина, 1984)

Место сбора клещей	Число накормленных клещей	Из них зараженных	Титр вируса КЭ у напитавшихся клещей (lg LD _{50/0.03})		
			Минимальный	Максимальный	Средний
Кировская обл.	99	7	1,0	2,6	1,7±0,3
Тюменская обл.	30	12	1,0	4,1	1,9±0,4
Хабаровский край	89	28	1,0	4,6	2,1±0,4

В популяции основного переносчика по годам изменяются не только доля и абсолютное количество зараженных особей, но и соотношение их числа с существенно различной дозой вируса. Эти изменения не коррелируют с изменением абсолютной численности клещей или относительными показателями их зараженности вирусом. Среди инфицированных клещей только немногие имеют высокий титр вируса (табл. 2.5), но они определяют общую абсолютную численность его популяции, т.е. «запас» вируса на конкретной обследованной площади. Он может быть представлен в цифровом выражении как логарифм суммы конкретных значений количества вируса в инфицированных членистоногих (Коренберг и др., 1986). Абсолютная численность высоко инфицированных клещей — это ключевой параметр, от которого зависит лоймопотенциал природного очага. Она может

изменяться по годам в несколько десятков раз. Именно колебания численности таких клещей в значительной степени определяют динамику суммарного запаса вируса во взрослых клещах, активировавшихся в данном году. Общее число зараженных клещей увеличивается в определенные годы в основном за счет особей, содержащих небольшие дозы вируса, причем это происходит не синхронно с увеличением числа сильно инфицированных. Слабо инфицированные особи принципиально не меняют суммарное содержание вируса в клещах (Коренберг и др., 1988; Ковалевский и др., 1989; Korenberg et al., 1992; Korenberg, Kovalevsky, 1995, 1999; Коренберг, Ковалевский, 2000). Таким образом, с одной стороны обеспечивается стабильность существования вирусной популяции и ее относительная независимость от колебаний численности клещей и других компонентов паразитарной системы, а с другой стороны, — возможность периодической широкой диссеминации вируса (Korenberg, 1989).

Таблица 2.5. Годовые изменения в соотношении взрослых голодных *Ixodes persulcatus* с разными титрами вируса, выявленные при титровании всех клещей, активировавшихся на протяжении всего весенне-летнего периода на постоянных пробных площадках в природном очаге КЭ в восточной части Восточной Европы (Korenberg and Kovalevskii, 1999).

Последовательные годы	Исследовано зараженных клещей	Доля клещей (%) с титром вируса (lg бляшкообразующих единиц)		
		< 3,0	3,0–4,9	≥ 5,0
A	441	83,4	14,1	2,5
B	143	85,3	13,3	1,4
C	29	93,1	6,9	—
D	59	18,6	71,2	10,2
E	30	19,3	60,0	16,7

Кроме того, знание дозы вируса, которая содержится в каждом из активировавшихся на определенной площади взрослых клещей при соблюдении соответствующей методики полевой работы, дает возможность получить представление о мозаичности пространственного распределения вирусной популяции в природном очаге.

2.4.5. Обобщенная модель эпизоотического процесса

Сущность сложных биоценологических закономерностей, обеспечивающих длительное существование паразитарных систем вируса КЭ (природных очагов) как и любого другого микроорганизма, сводится к неперемемному воспроизведению его популяции (Павловский, 1963), которое происходит по ходу эпизоотического процесса. «Звенья», образующие эпизоотическую цепь, и основные факторы, способствующие или ограничивающие их функционирование, рассмотрены выше (разделы 2.4.1–2.4.4). Это позволяет подойти к рассмотрению общей схемы циркуляции вируса КЭ в природных очагах.

Попытки представить такую схему были предприняты неоднократно (Павловский, 1940, 1947, 1960; Соловьев, 1944; Тагильцев, 1960; Карпов, Федоров, 1963; Блашкович, 1966; Radda, 1974; и др.). Некоторые исследователи (Pretzman et al., 1963) выдвинули идею «первичного цикла» вируса КЭ, который, по их мнению, лежит в основе эпизоотической цепи, состоящей из следующих звеньев: мышья-личинка клеща–нимфа–мышь. При этом они полагали, что во «вторичный цикл» включаются нимфы и имаго клещей, а также крупные животные, причем «вторичный цикл», по мысли этих авторов, постоянно получает приток вируса из «первичного цикла», тогда как приток вируса из «вторичного цикла» в первичный может быть лишь незначительным. Иными словами, такая схема означала, что взрослые клещи, их хозяева, как и возможность трансвариальной передачи вируса, практически были исключены из регулярного процесса его циркуляции. Эта идея оказалась живучей и при несколько изменившейся аргументации сохранилась до сих пор (раздел 2.4.3). Более реалистичные схемы вошли в учебники и руководства и стали хрестоматийными. Наиболее наглядно отражают суть явления те из них, в которых подчеркнута тесная связь существования вируса КЭ с жизненной схемой основного переносчика. Особенно выразительна в этом отношении схема (рис. 2.7) П. А. Петрищевой (1958). Основной недостаток этих схем, как, впрочем, и подавляющего большинства схем циркуляции других природноочаговых инфекций, заключается в отсутствии количественной оценки закономерностей гибели и воспроизводства возбудителя на разных этапах эпизоотической цепи.

При попытке подойти к решению этой задачи исходя из показателей зараженности клещей в разных регионах (раздел 2.4.4) были сформулированы два принципиальные отправные положения:

— вирусу КЭ, как и всякому биологическому виду, свойственна определенная «норма выживания» (или «норма гибели»); она невелика и относительно стабильна;

— популяции этого вируса, по-видимому, повсеместно имеют сходную (следовательно эволюционно закрепленную) основную схему воспроизводства.

Если бы популяция вируса могла длительно существовать за счет любой группы резервуарных хозяев и любой фазы развития кормящихся на них клещей (т.е. если бы воспроизводство вируса в размерах, обес-

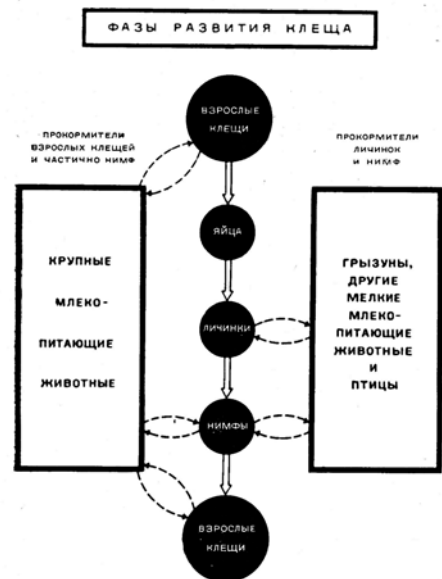


Рис. 2.7. Схема распространения вируса клещевой энцефалит во время развития клещей. 1 — передача вируса во время развития клеща; 2 — передача вируса во время кровососания клеща на прокормителях (Петрищева, 1958).

печивающих само существование его популяции, могло осуществляться по любому из нескольких действующих каналов), индивидуальная зараженность членистоногих неизбежно варьировала бы в чрезвычайно широких пределах. Относительная стабильность показателей вирусофорности имаго свидетельствует о том, что воспроизводство вируса особенно тесно связано с определенной фазой развития клещей и, следовательно, с животными-прокормителями данной фазы. В этой связи показательно, что, как показывают многолетние наблюдения в природном очаге, уровень зараженности личинок *I. persulcatus* почти не оказывает влияния на зараженность последующих фаз метаморфоза. Доля зараженных нимф в какой-то степени отражается на последующей зараженности имаго, однако от нимф к имаго процент вирусофорных клещей в целом всегда заметно снижается, а уровень зараженности голодных имаго весьма существенно влияет на аналогичные показатели ближайших по ходу метаморфоза фаз развития клеща. Это свидетельствует о том, что взрослая фаза переносчика и возможности ее прокормления — это не только лимитирующий фактор для существования популяции клещей (Вотяков и др., 2002), но и особо важное, ключевое звено в цепи циркуляции вируса (Коренберг, Ковалевский, 1977).

В представленной на рис. 2.8 схеме (в которой «n» — это число изначально напитавшихся самок) отражена флуктуация численности вируса КЭ, отражающая усредненные количественные показатели смертности (выживания) клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* на разных этапах их метаморфоза, частоту (вероятность) вертикальной (трансовариальной и трансфазовой) передачи вируса, его возможное размножение или гибель в организме клещей, степень вероятности медиаторной передачи на разных этапах метаморфоза этих членистоногих. Принятые при этом расчетные параметры, их обоснование и поэтапный процесс расчета изложены в специальной публикации (Коренберг, Ковалевский, 1977). Эти параметры обеспечивают значительную устойчивость модели, т.е. возможность длительного сохранения и передачи вируса даже при значительно меньшей исходной зараженности сытых имаго. Вместе с тем хотя в лабораторных условиях вирус КЭ проходил через три генерации *I. persulcatus* (Чумаков, 1944), расчеты подтвердили мнение (Беклемишев, 1959), что долговременное существование вируса КЭ только путем вертикальной передачи невозможно. В принципе членистоногие могут самостоятельно сохранять популяцию передаваемого ими микроорганизма лишь при высоких коэффициентах трансфазовой и трансовариальной передачи, сочетающихся с регулярностью транспермальной передачи и некоторыми другими маловероятными для вируса КЭ условиями (Расницын, 1976). Без периодического пополнения количества вирусофорных клещей его популяция не могла бы существовать неограниченно долгое время, и циркуляция вируса в природном очаге должна была бы прекратиться. Такое пополнение осуществляется при регулярном заражении клещей во время их питания на позвоночных животных, причем одно из неперемных условий возможности сохранения популяции вируса — его передача через позвоночных животных от имаго к имаго и от имаго к нимфам. Если допустить отсутствие такой передачи, то, как показывают расчеты, зараженность сытых личинок должна увеличиваться по сравнению с зараженностью

голодных личинок как минимум в 35–40 раз, что совершенно нереально. Если исключить медиаторную передачу вируса предимагинальным фазам, то для устойчивости модели необходимо, чтобы зараженность сытых имаго возрастала по сравнению с голодными в 25 раз, что также весьма мало вероятно. Поэтому при реальных показателях вирусофорности сытых взрослых самок как минимум на одной из предимагинальных фаз, скорее всего за счет нимф, должно происходить увеличение числа зараженных особей не менее чем в 5 раз. Этому может способствовать не только (или при определенных условиях даже не столько) вирусемия у позвоночных, как это полагали многие

годы, но и передача вируса от зараженных клещей незараженным при их совместном питании на хозяине, у которого нет вирусемии (раздел 2.4.3).

Рисунок 2.8 схематически отражает судьбу вируса в связи с судьбой какой-то одной генерации клещей. Однако в действительности клещи разных фаз развития и разновозрастные клещи одной фазы, одновременно кормящиеся на животном, принадлежат (или могут принадлежать) к различным генерациям (раздел 2.4.2). Поэтому в природе одна генерация клещей может получать вирус от другой не только трансвариальным путем, но и через позвоночных животных, которые представляют собой мощный канал передачи вируса, связывающий генерации переносчика по крайней мере пяти последовательных лет. Схема сложной эпизоотической цепи представлена на рисунке 2.9, но и она сознательно упрощена, поскольку не отражает, например, возможность диапаузирования части личинок и нимф каждого поколения. В реальной паразитарной системе отношения между клещами из нескольких последовательных поколений и, следовательно, возможные направления передачи вируса КЭ в естественных условиях значительно более разнообразны. Поэтому важно еще раз подчеркнуть, что в любом природном очаге и в любое время популяция вируса состоит из неоднородных по своему происхождению «микрораспространителей». Размах и значение такого экологического полиморфизма популяций вируса КЭ, как и других возбудителей природноочаговых инфекций, пока остается слабо изученным.

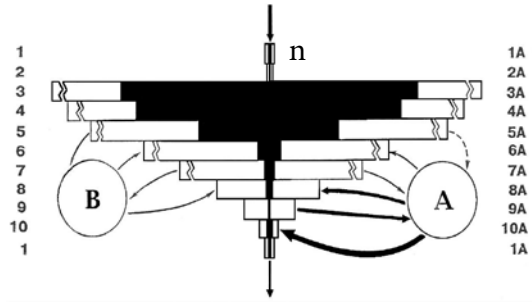


Рис. 2.8. Схема циркуляции и сохранения вируса клещевого энцефалита по ходу цикла развития одной генерации клещей (Коренберг, Ковалевский, 1977). Численность генерации основного переносчика на разных этапах ее развития (светлая фигура): 1 — сытых имаго, 2 — сытых имаго, отложивших яйца, 3 — яиц (яйцепродукция генерации), 4 — яиц после гибели яйцекладок, 5 — голодных личинок, 6 — накормившихся личинок, 7 — голодных нимф, 8 — накормившихся нимф, 9 — голодных имаго, 10 — имаго новой генерации. Численность зараженных особей (черные фигуры) на тех же этапах (1a–10a). Стрелки указывают направления и возможную интенсивность передачи вируса. В кругах: А — хозяева взрослых клещей и нимф; В — хозяева личинок и нимф.

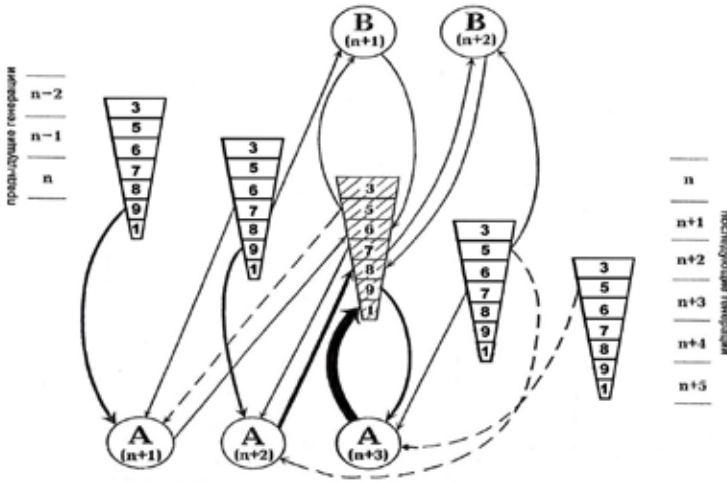


Рис. 2.9. Упрощенная схема направлений передачи и возможной интенсивности обмена (стрелки) вирусом КЭ между клещами разных поколений через позвоночных хозяев (Korenberg, Kovalevskii, 1999).

Заштрихованная фигура в центре показывает поколение клещей произвольно выбранного года «n».

Пути передачи вируса соединяют поколения клещей предыдущих (n-) и последующих (n+) лет, которые отделены друг от друга горизонтальными линиями. Другие обозначения — см. подписи к рис. 2.8.

Численность взрослых клещей в текущем сезоне и уровень их зараженности вирусом КЭ представляют собой результат сложных внутрипопуляционных и биоценологических процессов, протекавших в предшествующие сезоны, и в значительной мере зависит от того, по каким из вариантов развивалось потомство сытых самок (2.4.2). Из большого числа вариантов выбраны и для наглядности последовательно изображены 5 наиболее вероятных, по которым цикл развития завершается в течение 3–5 лет. При каждом варианте развития от условно принятого одинакового числа сытых самок на 3-й, 4-й и 5-й год получается разное количество голодных имаго. Поэтому гемипопуляция имаго, состоящая, как правило, из одновременно закончивших развитие представителей минимум трех поколений, ежегодно имеет различную общую численность и численность клещей, зараженных вирусом КЭ (рис. 2.10; I–III). Кроме того, в естественных условиях, уровень зараженности имаго зависит от численности и уровня зараженности поколений, от которых они произошли, и от особенностей изменения этой зараженности по мере развития каждой генерации (Коренберг, 1974; Наумов и др., 1976). Следовательно, решение проблемы прогнозирования интенсивности эпизоотического процесса не может быть сведено к простому поиску коррелятивных связей между уровнем численности мелких млекопитающих, числом иммунных зверьков или каким-то другим фактором в предшествующем году и зараженностью клещей в текущем сезоне. Разработка принципов и методов подобного прогнозирования должна базироваться на общих количественных, лежащих в основе циркуляции вируса КЭ в природе.

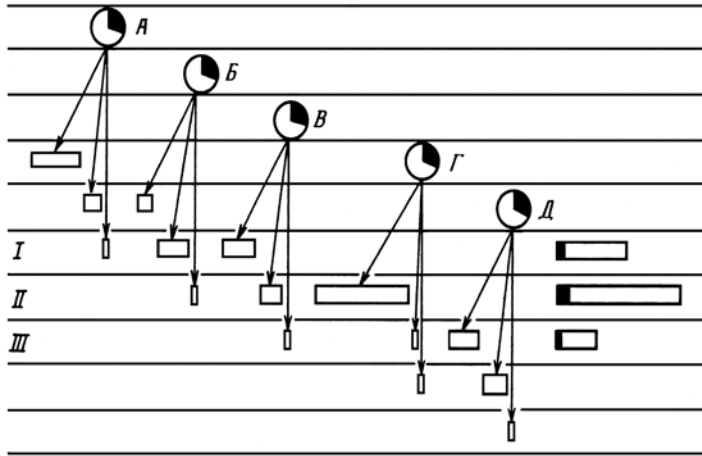


Рис. 2.10. Численность и время появления имаго последовательных поколений основного переносчика вируса КЭ (Коренберг, Ковалевский, 1977).

Горизонтальные линии отделяют последовательные годы: круги — сытые самки; прямоугольники — произошедшее от них потомство голодных имаго и общая численность имаго в 3 последовательных года (I—III). Черные секторы — число зараженных клещей; А–Д — разные варианты развития генерации: А — большинство сытых личинок развивается без диапаузы, половина получившихся от них нимф развивается также без диапаузы; В — половина личинок развивается без диапаузы, большая часть получившихся из них нимф развивается с диапаузой; С — большинство личинок развивается с диапаузой, большая часть нимф развивается без диапаузы; Д — большинство личинок и получившихся из них нимф развивается без диапаузы; Д — большая часть личинок развивается без диапаузы, большая часть получившихся из них нимф развивается с диапаузой.

2.4.6. Пространственная структура природных очагов

Общие положения, касающиеся пространственной структуры (морфологии) природных очагов, изложены в разделе 1.2. Здесь они будут конкретизированы применительно к очагам КЭ, морфология которых в значительной степени определяется пространственной структурой популяции основного переносчика. Представления о распределении по территории *I. persulcatus* начали складываться еще в первые годы изучения КЭ на Дальнем Востоке. Так, уже в работах Б. И. Померанцева и Г. В. Сердюковой (1940, 1947) отмечена ее определенная неравномерность, а Е. Н. Павловский (1947) ввел понятие о «мозаике» размещения клещей и впервые продемонстрировал ее на крупномасштабной картосхеме. Сущность этого явления он видел в том, что на ограниченных участках площадью несколько десятков квадратных километров распределение клещей по длине исследуемого маршрута или по площади неравномерно, причем такая мозаичность наблюдается и в пределах однородных растительных ассоциаций. Иными словами, мозаичность размещения клещей трактовалась как характерная черта пространственной структуры их популяции. Она обычно улавливается при крупномасштабной биосъемке особен-

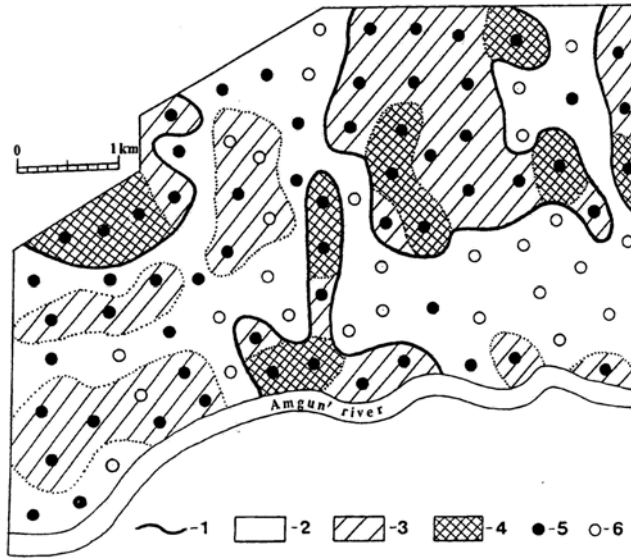


Рис. 2.11. Схема пространственной структуры части (около 24 км²) природного очага КЭ в среднетаежных лесах Хабаровского края, основанная на многолетних данных (Korenberg and Kovalevskii, 1998).

Условные обозначения: 1 — границы ядер очага; 2 — участки, где высокая численность клещей никогда не наблюдается; 3 — где она бывает редко (в некоторые годы) и (4) регулярно; пункты, где среди взрослых голодных клещей обнаружен (5) или не обнаружен (6) вирус КЭ.

ностей локализации взрослых голодных клещей, если места учета распределены по территории природного очага по равномерно-случайному принципу (рис. 2.11). Под пространственной структурой популяции пастбищных иксодовых клещей предложено понимать закономерное чередование участков, характеризующихся определенным классом их численности (Коренберг, 1979).

Степень и общий характер (форма) мозаичности размещения клещей закономерно связаны с общим уровнем численности их популяции и представляют собой один из ее наиболее важных экологических признаков. Структура популяции клещей динамична и ежегодно может принимать иное пространственное выражение, но ее тип относительно стабилен и, видимо, меняется только под воздействием факторов, коренным образом преобразующих условия существования популяции в целом. При сходном уровне численности клещей популяции имеют и сходный тип пространственной структуры, который может быть не только отображен картографически, но и выражен гистограммой, отражающей относительную частоту (в процентах) показателей различных классов обилия этих членистоногих (Коренберг и др., 1969; Коренберг, 1974, 1979). В pessimalных для клещей условиях число таких типов невелико. Здесь на значительной или даже бóльшей части территории клещи отсутствуют. Имеются лишь отдельные пятна, где клещи встречаются, но и здесь их бывает сравнительно мало, что характерно для популяций вблизи границ видового ареала

(рис. 2.12, А). Тем не менее в географическом отношении — это наиболее широко распространенные типы пространственной структуры популяций, поскольку они, как правило, имеются и в тех регионах, где в общем условия для клещей более благоприятны. Но в таких регионах в границах популяции клещи обычно встречаются в значительном количестве почти повсеместно, а на отдельных участках показатели их обилия могут быть особенно высокими. Таким регионам свойственно большее разнообразие (большой набор) типов пространственной структуры популяций (рис. 2.12, Г). Наибольшее разнообразие типов пространственной структуры популяций (не менее 7) должно быть характерно для регионов, где численность клещей *I. persulcatus* или *I. ricinus* доходит до максимально возможного уровня.

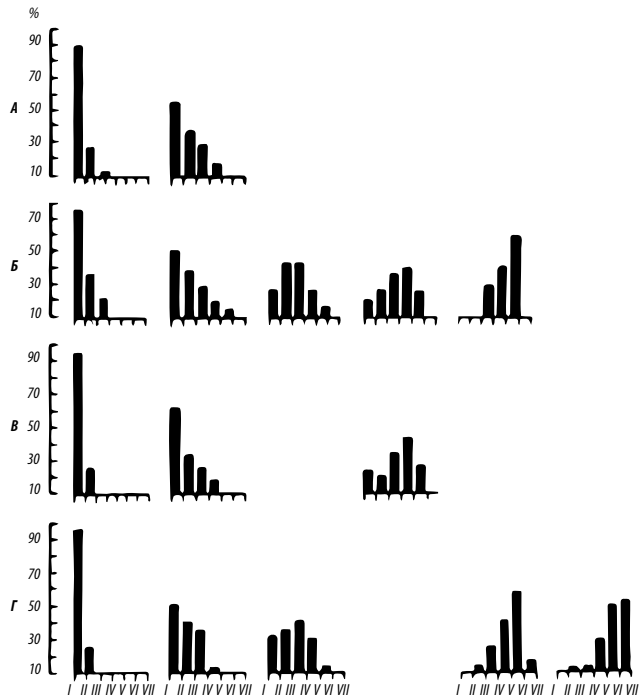


Рис. 2.12. Вариационные ряды показателей обилия (на флаго-час) взрослых таежных клещей, отражающие типы пространственной структуры их популяций, характерные для (табл. 2.2.) Северо-Уральского (А), Вятско-Камского (Б), Баджальского (В) и Алтайского (Г) региональных комплексов (Коренберг, Ковалевский, 1986).

I-VI — классы численности клещей: I — клещи отсутствуют; II — 1-2 на флаго-час; III — 3-7; IV — 8-19; V — 20-59; VI — 60 и более.

В целом пространственная структура природных очагов КЭ определяется пространственной структурой популяций иксодовых клещей — основных переносчиков и резервуаров вируса (Коренберг, 1979; Korenberg and Kovalevskii, 1998). Ежегодная интенсивная циркуляция вируса происходит в основном в «пятнах» со стабильно высокой численностью клещей, как правило, значительно превышающей их численность в природном очаге в целом (Pretzmann et al., 1964; Pretzmann, 1966; Коренберг, 1979; Nosek et al., 1970; Окулова, 1986; Korenberg and Kovalevskii, 1998). Эти стабильные и эпизоотически наиболее активные участки природного очага, которые формируются прокормителями взрослых клещей и нимф (раздел 2.4.1), представляют собой его своеобразные ядра. Как правило, их окружают большие по площади участки менее интенсивной циркуляции вируса (Коренберг, 1979). Функционально это качественно различные компоненты морфологии природного очага, которые В.В. Кучерук (1972) назвал участками выноса инфекции. Как

составную часть природного очага следует рассматривать и довольно обширную территорию, которая в той или иной степени в разные сезоны необходима для нормального существования хозяев взрослых клещей, но где их зараженные особи обычно отсутствуют или бывают лишь в некоторые годы. В продемонстрированном на рисунке 2.10 природном очаге среднесезонная зараженность взрослых *I. persulcatus* (по результатам исследования пулов по 10 особей) в ядрах очага составляла $24,7 \pm 3,0$, на участках выноса инфекции — $16,8 \pm 2,5$, а на остальной территории — $9,8 \pm 3,8$. Весьма сходная пространственная структура характерна для природных очагов КЭ с основным переносчиком *I. ricinus* (Pretzmann et al., 1964; Pretzmann, 1966).

2.5. Эпидемиология

Эпидемиологическая характеристика КЭ уже давно совершенно не соответствует сложившейся в начале его изучения на Дальнем Востоке и отражавшей ситуацию того времени в этом регионе. Постулировалось, что заболевание эндемично для дальневосточной тайги, причем благодаря многократному получению небольших (субклинических) доз вируса, происходит так называемое проэпидемичивание, препятствующее заболеваниям местных сельских жителей; горожане (взрослые и дети), как правило, не болеют; заражаются в основном приезжие, связанные с лесом по характеру своего труда; по мере обживания тайги природные очаги КЭ затухают, и заболевания постепенно прекращаются (Зильбер, 1939; Данковский, 1939; Ольшевская, 1939; Смородинцев, 1939; Шаповал и др., 1939). Обширные данные, накопившиеся в последующие годы, заставили пересмотреть эти представления (Иванова, 1969; Korenberg, 1976; Korenberg and Kovalevskii, 1999). Довольно быстро стало ясно, что вирус КЭ широко распространен в лесной зоне Евразии (раздел 2.3). Однако некоторые из перечисленных положений оказались живучими и продолжают «кочевать» по страницам ряда не слишком профессиональных обзоров, монографий и учебных пособий. Между тем в последние два десятилетия по общеизвестным причинам в нашей стране в целом заметно ослабли исследования в области КЭ и других природноочаговых инфекций. Кроме того, санитарно-эпидемиологическая служба переживала затянувшуюся и пока еще не вполне завершившуюся повсеместную структурно-функциональную реорганизацию. Эти процессы привели к значительной утрате, переориентации и физической смене опытных кадров. Особенно остро ощущается нехватка квалифицированных эпидемиологов и паразитологов, что предопределяет необходимость краткого изложения наиболее важных черт эпидемиологии КЭ.

2.5.1. Источники возбудителя

Источником возбудителя для человека чаще всего бывают таежный и лесной иксодовые клещи, которые являются также его основными переносчиками и долговременными хранителями в природных очагах. Их распространение и степень

зараженности вирусом КЭ описаны в разделах 2.3. и 2.4. У таежного клеща агрессия по отношению к человеку (нападают и пытаются напиться на человеке) в резко преобладающем числе случаев (в целом около 95–98 % укусов и более) исходит от имаго и только изредка — от нимфы (Федоров, 1968; Ковалевский, Коренберг, 1987; и др.). У лесного клеща на человека нападают не только имаго, но и нимфы, причем нередко нимфы кусают даже чаще, чем взрослые клещи, особенно в южных частях ареала этого вида. С этим связана специфика сезонности заболеваемости и некоторых других черт эпидемиологии КЭ в ареале *I. ricinus* (Коренберг, Ковалевский, 1981; раздел 2.5.4). Человека кусают не только самки, но и (чаще у *I. persulcatus*) самцы. Несмотря на то, что их кровососание непродолжительно (от нескольких минут до 2 часов), при наличии у них вируса самцы успевают произвести заражение и, как показывают наши прямые наблюдения за пострадавшими, а также литературные данные (Александров, Ягодинский, 1966), несомненно, могут быть источником вируса. При этом самцы способны к многократному повторному присасыванию, а их зараженность в природных очагах практически не отличается от зараженности самок. Было высказано мнение о более высокой агрессивности клещей, зараженных вирусом КЭ по сравнению с незараженными (Алексеев и др., 1988; Алексеев, 1990, 1993, 1994), которое поддержали некоторые исследователи, не приводя при этом убедительных доказательств (Мельникова и др., 1996 и др.). При сравнении показателей зараженности взрослых голодных *I. persulcatus*, собранных в течение 5 последовательных лет с растительности (исследовано около 1700 клещей) и снятых в те же годы с людей (исследовано почти 63 тыс. клещей), этот феномен не подтвердился (Korenberg et al., 2001), что свидетельствует о необходимости дополнительных данных по поводу реальности его существования.

Скот, получая вирус КЭ от присосавшихся клещей, становится источником возбудителя для человека (Коренберг, 2002). Особое значение в этом отношении имеют козы, которые болеют КЭ с выраженной вирусемией и выделяют вирус с молоком (Дроздов, 1959, 1959а; Вотяков и др., 2002). Специальными экспериментами и эпидемиологическими наблюдениями показано, что одна и та же коза способна несколько раз на протяжении жизни заражаться КЭ и выделять вирус с молоком, становясь, таким образом, непосредственным источником возбудителя для людей в разные эпидемические сезоны (Попов, 1967; Попов, Иванова, 1968; Коренберг, Пчелкина, 1975). Это также подтверждают сезонные и возрастные особенности естественной иммунизации коз в очаге КЭ (Коренберг, Пчелкина, 1967, 1968; Кучерук, 1980).

Экспериментально, при трансмиссивном (через клещей *I. ricinus*) и подкожном заражении коров большими дозами вирусом КЭ, у этих животных обнаружена вирусемия и переход вируса в их молоко (Grešiková, 1958; Grešiková, Rehaček, 1959). Описаны случаи передачи вируса с коровьим молоком (Верета, Кантер, 1963; Верета и др., 1991), которая, судя по эпидемиологическим данным (точнее, по отсутствию эпидемиологических подтверждений такой передачи, которые при ее регулярности были бы многочисленными), если и происходит, то в достаточно редких случаях. Вирус КЭ обнаружен в крови подкожно зараженных ягнят (Во-

тяков и др., 2002), а также в крови овец (Левкович и др., 1955; Grešíková, 1958a; Grešíková, Rehaček, 1959). По некоторым данным (Grešíková and Calisher, 1988) вирус сохраняется в молоке коз, овец и крупного рогатого скота до 8 дней после инфицирования, и в определенных ситуациях эти животные могут быть источником возбудителя для людей (раздел 2.5.2).

2.5.2. Механизмы и пути передачи возбудителя и восприимчивость людей

Человек обычно заражается КЭ трансмиссивным или алиментарным путем. Наибольшее эпидемиологическое значение имеет «классический», как его назвала Е.Н. Левкович с соавторами (1987), трансмиссивный путь передачи возбудителя, наиболее полно реализующийся в ходе эпизоотического процесса (раздел 2.4.5): зараженный клещ инокулирует вирус вместе со слюной при кровососании (Зильбер, 1939, 1939а, 1945; Павловский, 1940, 1947; Павловский, Соловьев, 1940). При этом первые же порции слюны, которую он начинает инокулировать сразу после прикрепления, содержат вирус (Алексеев, Чунихин, 1990а; Алексеев, 1993). Поэтому даже непродолжительное пребывание переносчика на теле после укуса может оказаться достаточным для заражения человека. В целом, как в нашей стране, так и за рубежом подавляющая часть заболеваний связана с укусами клещей. По мнению П. Натталл (Nuttall, 2011) в России КЭ болеет 1 человек из каждых 100 укушенных клещами, а в Западной Европе риск заражения составляет от 1:200 до 1:900 укусов клещей.

Человек может заразиться и при употреблении в пищу молока (чаще всего козьего), содержащего вирус, или молочных продуктов, приготовленных из такого молока без соблюдения режима обеззараживания. Алиментарный путь заражения чаще связан с употреблением в пищу сырого козьего молока, что нередко сопровождается семейно-групповыми заболеваниями.

Число алиментарных случаев и их доля в структуре заболеваемости определяют поголовьем коз, которое, в свою очередь, сильно зависит от социально-экономических причин и благосостояния населения. В 1958 г. в РФ было выявлено 110 заболеваний алиментарного происхождения, связанных с употреблением некипяченого козьего молока, а в 1959 г. — 290; в разных частях Чехословакии на их долю в эти годы приходилось 10–20% случаев КЭ (Левкович и др., 1987). К середине 60-х годов они отмечались в 16 областях и автономных республиках РСФСР, причем на их долю приходилось 12% всех заболеваний. В целом в 50–60-е годы до 76% всех заболеваний КЭ в Белоруссии и до 15–20% в России были обусловлены алиментарными заражениями. В РФ большая их часть происходила в Кировской, Свердловской, Пермской областях и Удмуртской АССР, где крупные стада коз, принадлежавших работникам леспромхозов и другим сельским жителям, выпасали в лесах с высокой численностью и зараженностью клещей вирусом КЭ. В Пермской области, например, в отдельные годы удельный вес таких случаев доходил до 15–20%, а в Кировской области — до 50–69%. Чаще болели главные потребители молока — дети до 15 лет (56%); заболеваемость нередко характеризовалась семейно-групповым характером. Поми-

мо клинически выраженных, отмечалось множество инаппарантных проявлений: по наблюдениям в Кировской области, например, где удельный вес алиментарных случаев доходил до 50–69 %, в течение одного сезона около 50 % лиц, употреблявших молоко коз, перенесли инаппарантную форму КЭ (Иванова, 1958, 1961, 1969; Попов, Иванова, 1968). Частота контакта коз с вирусом КЭ, и следовательно риск последующего заражения людей, при прочих равных условиях зависят от численности клещей в местах выпаса (Коренберг, Пчелкина, 1969). В 1972–1990 гг. в связи с резким сокращением поголовья коз алиментарные заражения повсеместно постепенно почти исчезли: около 25 случаев по стране в год (Иванова, 1982). В начале 90-х годов при общем ухудшении социально-экономической ситуации в стране козы, содержание которых не требует значительных затрат, вновь стали привлекательными не только для сельских, но и для городских жителей. Соответственно опять начало увеличиваться число алиментарных случаев КЭ, причем они появились практически даже в черте крупных городов (Санкт-Петербург, Екатеринбург и др.). В последние 15 лет случаи заражения людей через козье молоко были отмечены также в Словакии (Kohl et al., 1996; Labuda et al., 2002), Польше (Matuszczyk et al., 1997), Эстонии (Kerbo et al.), Австрии (Holzmann et al., 2009), Чешской Республике (Křůž et al., 2000).

Известны редкие случаи заражения контактным путем вследствие проникновения вируса через поврежденную кожу, слизистую оболочку глаза. Они происходят при раздавливании инфицированного клеща или несоблюдении режима лабораторной работы (Левкович и др., 1967; Avšič-Županc et al., 1995). Описаны единичные заражения при переливании крови (Wahlberg et al., 1989), забое козы с вирусемией (Kräusler, 1981), а также передача возбудителя с грудным молоком ребенка от матери, в крови которой был вирус КЭ (Vaisviliene, 1997).

Достоверных сведений о невосприимчивости к вирусу клещевого энцефалита той или иной части населения практически нет. Это объясняется скорее неизученностью проблемы, а не реальным отсутствием самой невосприимчивости, поскольку, как отметили В. А. Лашкевич и Г. Г. Карганова (2007, С. 31), «совершенно неясным остается, какая часть людей инфицируется после присасывания зараженного клеща, какова доля первично невосприимчивых лиц, каковы причины невосприимчивости и различий в клинической картине КЭ». Есть данные о большей резистентности представителей некоторых коренных народностей тайги. По всей видимости, это может быть связано с особенностями их конституционального иммунитета.

2.5.3. Причины и интенсивность контакта населения с природными очагами

Причины и интенсивность контакта сельского и городского населения с природными очагами, в конечном счете во многом определяющие местный, региональный и любой иной уровень заболеваемости КЭ (как и других природно-очаговых инфекций), зависят от меняющихся социально-экономических условий жизни, плотности населения и особенностей его расселения, которые неизбежно

оказывают влияние на лоймопотенциал самих природных очагов и особенности их эпидемического проявления (рис. 1.2). При этом обживание лесной местности, как правило, приводит к трансформации первичных «диких» природных очагов в антропоургические (Петрищева, 1964; Карпов, 1976; Кучерук, 1980 и др.), которые сейчас имеют наибольшее эпидемическое значение.

В 1955–1958 гг. в целом большую часть заболевших составляли сельские жители (59,9%); особенно велика их доля (более 75%) была в Алтайском, Хабаровском и Приморском краях. Показатели интенсивности заболеваемости сельского населения во всех административных территориях РСФСР были в 1,3 (Томская область) — 22 (Приморский край) раза выше, чем городского (за исключением Удмуртской АССР, где они практически не отличались). 25% переболевших КЭ составляли дети школьного возраста и неуклонно возрастало число случаев среди дошкольников (с 2,1% в 1952 г. до 9,8% в 1958 г.).

В 1965–1971 гг. заболеваемость среди сельского населения России, как в абсолютных, так и в интенсивных показателях (до 4,0 на 100 тыс. человек) еще оставалась выше, чем среди горожан (до 3,0). Сельские жители и тогда, и сейчас чрезвычайно интенсивно соприкасаются с природными очагами КЭ. Так, в 1965–1967 гг. в Удмуртской АССР, например, которая занимала одно из первых мест по уровню заболеваемости КЭ, 75% сельских жителей в течение лета посещало лес, 20% из них контактировало с клещами и 12% было укушено ими. По отдельным населенным пунктам процент жителей, посетивших лес в течение лета, колебался от 44 до 100, для лиц, контактировавших с клещами — от 0,8% до 60%, а жителей, укушенных клещами — от 0 до 50%. Связь между обилием клещей в лесах, окружающих конкретный населенный пункт, и частотой их присасывания к жителям в общих чертах прослеживалась достаточно хорошо, но обязательной корреляции между двумя этими показателями не выявлено, что связано с совпадением или несовпадением массового посещения леса с периодом сезонного пика численности клещей. При высокой общей численности клещей в июне практически каждое посещение леса приводило к контакту с ними, а одно из 7 посещений заканчивалось укусом клещей. К концу июля один контакт с клещами приходился на 20 посещений леса, но уже одна из трех встреч заканчивалась их прикреплением, что объясняется изменением физиологического возраста самих клещей (см. ниже). Вблизи северной границы ареала КЭ на территории Коми АССР с гораздо более низким уровнем численности клещей (Ковалевский и др., 1969) за лето посещали лес около 95% сельских жителей (от 89% до 97% в различных населенных пунктах), но контакт с клещами регистрировало максимум менее 5% из них (Кучерук и др., 1969). В целом в пределах ареала вируса КЭ 70–90% сельчан ежегодно в летнее время бывают в лесу, причем в Европейской части страны 3–12 раз, а в Центральной Сибири 23–48 раз. Каждый четвертый–восьмой из них отмечает укус клещей. Заражение, как правило, происходит в давно и хорошо обжитой местности, в радиусе 3–8 км от населенного пункта при посещении леса по хозяйственно-бытовым нуждам или во время отдыха. Значительную часть заболевших в этот период составляли работники леспромхозов и других отраслей, связанных с работой в лесу. Сово-

купность этих, а также многих других позднее суммированных данных, полученных в разных регионах (Коренберг, Ковалевский, 1981), привела к заключению, что показатели контакта населения с переносчиком определяются численностью популяции клещей и степенью посещаемости природного очага людьми (Kucheruk, 1971). Уже тогда стало очевидно, что КЭ — далеко не только профессиональное заболевание, им часто заражаются городские жители (44% в 1970 г.), включая детей. В целом на детей до 14 лет ежегодно приходилось 25–35% общего числа заболеваний, причем в связи с употреблением козьего молока возраст 7–10% заболевших детей составлял не более 7 лет (Попов, Иванова, 1968; Иванова, 1969).

Уже в 1972–1990 г. среди больных резко возросла (до 68% к 1978 г.) и продолжала постепенно увеличиваться доля горожан. В целом заболеваемость городского и сельского населения стала практически одинаковой, а в некоторых областях к концу этого этапа как абсолютные, так и относительные ее показатели среди горожан оказались выше. Производственный контакт с лесом обуславливал не более 15–20% всех случаев КЭ.

С 1991 г. основную часть заболевших (более 75%) составляют горожане, причем особенно заметный рост заболеваемости наблюдается практически за счет всех крупных городов, расположенных внутри ареала КЭ, с населением более 300–400 тыс. жителей. Заражения происходят на собственных дачах и садово-огородных участках, во время прогулок и отдыха в лесу, нередко на расстоянии десятков и сотен километров от городов, чему способствует резко возросшая обеспеченность населения различными транспортными средствами, развитие туризма, массовые выезды за пределы города. Горожане теперь болеют в 2,5 раз чаще, чем сельские жители (Онищенко, 2000). КЭ стал серьезной проблемой для многих крупных городов, расположенных в пределах ареала его возбудителя, от Калининграда на западе страны до Владивостока на Дальнем Востоке. В этих условиях начиная с 1990 г. постепенно увеличивается заболеваемость среди детей до 14 лет, на долю которых в некоторые годы приходится до 20–30% всех заболевших. КЭ перестал быть преимущественно профессиональным заболеванием.

КЭ заражаются как мужчины, так и женщины всех возрастов, причем региональные отличия половой и возрастной структуры заболеваемости напрямую связаны с местными особенностями контакта населения с природными очагами. В последние годы в крупных городах среди заболевших встречаются пациенты всех возрастных групп: от грудных детей до 70–80 лет (Коренберг и др., 2007). Заболевания детей в возрасте до 2 лет в основном обусловлены алиментарным путем инфицирования. Известны случаи заражения КЭ после укуса клеща, занесенного в жилое помещение из леса домашними животными, с цветами или ветками (Левкович и др., 1987).

Непосредственной опасности заболевания КЭ подвергается множество людей. В конце 70-х–начале 80-х годов в РСФСР на пункты серологической профилактики ежегодно обращалось 55–80 тыс. человек (Иванова, 1982), и тогда эти цифры казались пугающе большими. Но в последнее время в лечебно-профилакти-

ческие учреждения по самым приблизительным оценкам обращается в 4–10 раз больше укушенных клещами. Так, по данным оперативного эпидемиологического мониторинга, проведенного только в 19 субъектах РФ, в 2005 г. обратилось около 259 тыс., в 2006 г. — около 245 тыс., в 2007 г. — около 341 тыс., в 2009 г. — около 500 тыс. человек (Онищенко и др., 2007).

В очагах с основным переносчиком *I. persulcatus* наибольшее число покусанных клещами и, соответственно, большее число заражений КЭ бывает весной и в первой половине лета, в период максимальной сезонной численности имаго (раздел 2.5.4). Во второй половине лета численность клещей в природе и интенсивность их нападения снижаются, однако доля особей (от числа напавших на людей), которые успевают присосаться, даже увеличивается (рис. 2.13.). Это происходит потому, что активировавшиеся клещи постепенно расходуют запас питательных веществ; с июня среди активных голодных особей нарастает доля сильно истощенных особей (Репкина, 1985; раздел 2.4.2), которым свойственна более высокая агрессивность, чем клещам раннего физиологического возраста (Балашов, 1962; Лыков, 1967). В результате изменяется поведение клещей: время с момента попадания клеща на тело человека (как и любого другого прокормителя) до его присасывания существенно сокращается (Лутта и др. 1959). Поэтому риск заражения во вторую половину лета остается высоким (Фастовская, Присягина, 1968; Kucheruk, 1971).

В среднем для весенне-летнего периода срок пребывания человека на территории с численностью зараженных взрослых клещей от 40–50 до 120–230 (в разные годы) на га, в течение которого удастся избежать укуса клеща, даже при соблюдении рекомендованных (на том этапе) правил личной профилактики, составлял 4–9 дней. В течение 10 посещений леса на 1 человека приходилось около 2 укусов

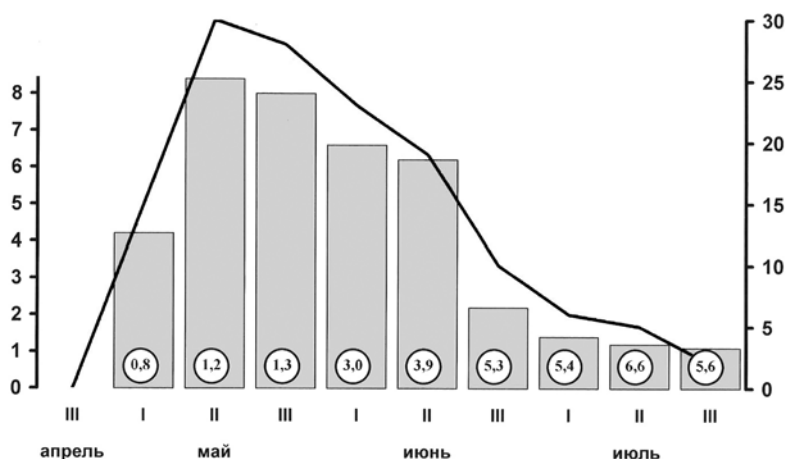


Рис. 2.13. Численность голодных имаго *I. persulcatus* на флаго-час (график; шкала справа) в природном очаге (среднетаежные леса Хабаровского края) и среднее число клещей, напавших на человека в день при работе в лесу (столбцы; шкала слева) в разные декады. Цифры в кружках — процент присосавшихся клещей от числа напавших (Коренберг, 1989).

клеща, причем, судя по расчетам, десятая их часть могла быть произведена зараженным переносчиком, а риск присасывания сильно инфицированного клеща (с содержанием вируса $5 \lg$ БОЕ/мл и более) в одни годы был очень мал, но в другие — увеличивался в 4–5 раз и более. Среднестатистическая вероятность укуса клеща с такой высокой инфицированностью вирусом КЭ в этом конкретном природном очаге составляла 1 на 200–5000 посещений леса, а с меньшей инфицированностью — 1 на 70–200 посещений. Однако следует принимать во внимание, что приведенные среднестатистические показатели лишь весьма условно отражают риск заражения, поскольку в реальной ситуации контакт с зараженным переносчиком может произойти и при первом же посещении леса или, наоборот, при длительном пребывании человека в лесу не произойти вовсе. В целом вероятность укуса зараженным переносчиком больше зависит от количества в очаге его инфицированных особей, которое варьирует по годам в значительных пределах (рис. 2.9), чем от довольно стабильных показателей интенсивности контакта с клещами (Ковалевский, Кореберг, 1987, 1990; Korenberg and Kovalevskii, 1995).

2.5.4. Заболеваемость

Как уже упомянуто выше, уровень эпидемического проявления очага КЭ (т.е. количество заражений людей, которые происходят в конкретном очаге), как и при других природноочаговых инфекциях — это в конечном счете результат взаимодействия его эпизоотического потенциала и интенсивности контакта людей с этим очагом (рис. 1.2). При этом следует иметь в виду, что люди, регулярно контактирующие с вирусом КЭ в природных очагах, не становятся абсолютно резистентными, и антитела, присутствующие в их крови, по меньшей мере далеко не всегда предотвращают возможность заболевания (Korenberg, 1976; раздел 2.7).

В общей форме уже достаточно давно известно, что вероятность заражения человека ТВЕ в природном очаге зависит от количества имеющихся там зараженных клещей (Мишин, 1958; Нецкий, Богданов, 1966). Однако многолетние данные свидетельствуют об отсутствии корреляции между показателями заболеваемости и зараженностью клещей вирусом (Бахвалова и др., 2011), причем по сравнительно непродолжительным наблюдениям может складываться впечатление, что такая зависимость существует. Так, анализ 20-летних данных, полученных Г.Н. Леоновой (1997) в Приморском крае Дальнего Востока, показал, что в целом коэффициент корреляции (r) между упомянутыми показателями составляет всего 0,02, хотя для определенных временных отрезков этого периода он был гораздо выше: например, для периода с 1974 по 1977 г. — $r = 0,79$; с 1984 по 1990 г. — $r = 0,87$, а с 1986 по 1990 г. r составляет даже 0,98. В целом приведенная иллюстрация (рис. 2.14.), наши наблюдения (табл. 2.6.) и данные, полученные другими исследователями (Окулова, 1986), свидетельствуют о том, что уровень заболеваемости людей КЭ слабо связан с относительной зараженностью клещей вирусом. Наиболее четкий показатель потенциальной эпидемической опасности природного

очага КЭ — плотность сильно зараженных клещей. Однако чтобы получить такие репрезентативные данные, нужны специальные довольно трудоемкие полевые и лабораторные исследования (Korenberg et al., 1992). Небольшое количество исследованных клещей вообще не гарантирует обнаружение клещей с высоким титром вируса (табл. 2.5). При относительно стабильном уровне контакта населения с природными очагами изменения заболеваемости по годам в определенном регионе довольно тесно коррелируют с колебаниями абсолютной численности клещей и, особенно, с абсолютной численностью зараженных переносчиков (табл. 2.6).

Таблица 2.6. Интенсивность корреляции между параметрами абсолютной численности гемипопуляции взрослых *I. persulcatus*, абсолютной численностью зараженных клещей, процентом их зараженности и показателями заболеваемости населения КЭ по многолетним наблюдениям в Предуралье (Korenberg and Kovalevskii, 1995).

Последовательные годы	Абсолютная численность <i>I. persulcatus</i> (на гектар)	Зараженность клещей	Число случаев КЭ	
	Всего	Только зараженных	(%)	(на 100 000 жителей)
A	835	296	35,4	44,9
B	663	142	21,5	25,6
C	226	25	10,9	14,0
D	1423	502	35,3	77,0
E	212	82	38,7	14,5
F	390	59	15,2	8,4
Коэффициент корреляции (r) с показателями заболеваемости:	0,97	0,99	0,57	

Сезонность. Для КЭ характерна строгая сезонность, что было установлено в самом начале его изучения и нашло отражение в первом названии заболевания: весенне-летний энцефалит (раздел 2.1). Такая сезонность определяется периодом активности антропофильных фаз развития клещей — основных переносчиков (раздел 2.5.1). Первые взрослые *I. persulcatus* обычно появляются в активном состоянии (активируются) во второй половине апреля — начале мая. В каждом регионе эти сроки сдвигаются в ту или другую сторону в зависимости от особенностей наступления весны в конкретном году. Кривая сезонной активности голодных клещей не учитывает тех, которые уже нашли прокормителя, и по существу пред-

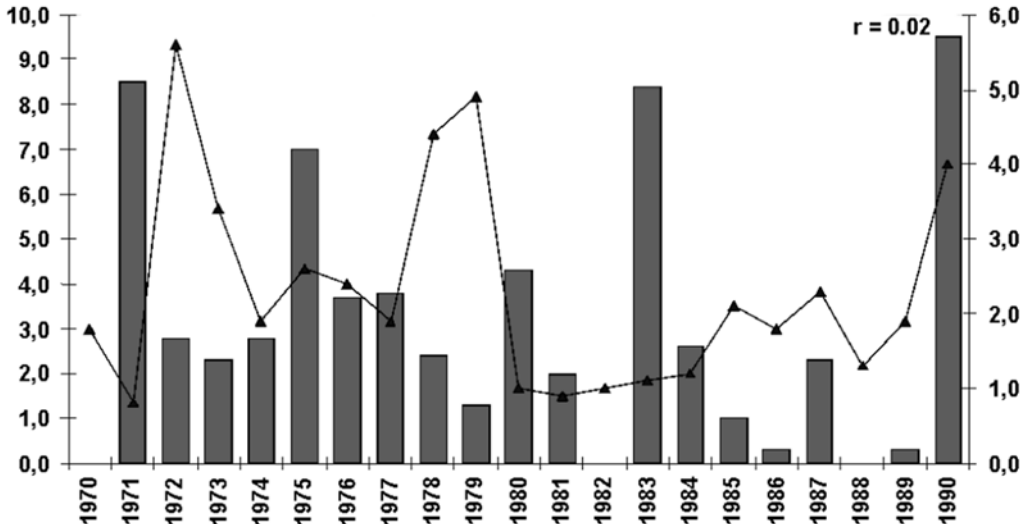


Рис. 2.14. Изменения показателей заболеваемости людей КЭ и зараженность клещей *I. persulcatus* вирусом в Приморском крае Дальнего Востока с 1970 по 1990 г. (Korenberg and Kovalevskii, 1999).

Столбики — интенсивность заболеваемости на 100 тысяч человек (шкала справа);
кривая линия — колебания зараженности клещей вирусом (шкала слева).

ставляет собой результат двух разнонаправленных процессов: постепенной активации гемипопуляции и постепенной гибели от истощения тех активных особей, которые израсходовали запас питательных веществ, но так и не нашли прокормителя (Korenberg, 2000; Балашов, 2012 и др.).

Активация (т.е. суммарный период первого появления всех активизирующихся особей после зимовки) взрослых *I. persulcatus* в различных природных условиях длится от 45 до 86 дней. В некоторых районах Дальнего Востока этот период, видимо, может быть даже больше. Его продолжительность не одинакова у разных частей одной гемипопуляции, различающихся по численности, локальным условиям существования и функционирования (Арумова и Рубина, 1974; Репкина и Успенский, 1980; Коренберг и др., 1981; и др.). Для эпидемиологии и эпизоотологии КЭ чрезвычайно важно, что активация происходит особенно интенсивно в самом ее начале. Период времени, в течение которого активизируется 50 % всей гемипопуляции, предложено обозначать как AT_{50} ; он составляет всего 10–20 дней. Появление остальной части всех клещей, которые активизируются в течение сезона, растягивается на гораздо более продолжительное время (Арумова и Рубина, 1974; Репкина и Успенский, 1980; Коренберг и др., 1981; Бабенко и Репкина, 1985).

Особи, израсходовавшие запасы питательных веществ и не сумевшие найти прокормителя, быстро гибнут. Период, в течение которого погибает половина всех активировавшихся клещей, предложено обозначать как LT_{50} (смертельное время). Он может служить параметром, характеризующим экологическое состо-

яние популяции клещей (Репкина и Успенский, 1980). Максимальная продолжительность жизни каждого голодного клеща, и следовательно период, отпущенный ему природой, в течение которого он должен успеть найти хозяина, в конечном счете зависит от его календарного и физиологического возраста в момент активации. По некоторым данным, эта длительность не превышает 54 дней для взрослых *I. ricinus* (Lees and Milne, 1951) и 61 день для *I. persulcatus*. Клещи одного календарного возраста, но активировавшиеся в разное время, различаются по продолжительности активной жизни (Хижинский, 1963; Лыков, 1967; Арумова и Рубина, 1974; Арумова, 1983; Бабенко и Репкина, 1985).

Итак, на протяжении большей части сезона активности взрослых клещей их население состоит из особей различного физиологического возраста. В начале этого периода и до тех пор пока наступает сезонный пик численности, количество клещей быстро увеличивается в связи с интенсивной активацией особей, которые способны к более продолжительной жизни. Затем появляются клещи, чей временной «потенциал» выживания существенно меньше. Среди голодных клещей, оставшихся на растительности, нарастает суммарная доля особей, исчерпавших запас питательных веществ и обреченных на гибель, что приводит к постепенному снижению сезонной численности гемипопуляции и в конечном счете к полному исчезновению всех оставшихся голодных клещей. Таким образом, специфика, продолжительность и динамика сезонной численности взрослых голодных клещей зависят от соотношения режимов их активации и скорости гибели (Korenberg, 2000).

Среднемноголетняя продолжительность периода их активности в различных регионах составляет от 60–65 до 120–140 дней. На Дальнем Востоке в некоторые годы он существенно превышает эти максимальные цифры. По имеющимся многолетним наблюдениям в разных пунктах ареала *I. persulcatus* в зависимости от условий их теплообеспеченности и влажности различаются по меньшей мере четыре типа проявления сезонной активности взрослых клещей (Коренберг и др., 1974; Бабенко, 1985; Korenberg, 2000).

Так, в одной группе пунктов первые клещи появляются относительно рано (как правило, во второй–третьей декадах апреля), а исчезают чаще всего только в первой декаде августа, т.е. наблюдается раннее начало и поздний конец периода активности. Это обуславливает его большую общую продолжительность, которая в среднем за ряд лет составляет 100–115 дней и, видимо, может достигать до 120 дней (1-й тип сезонной активности). Такой характер сезонной активности клещей наблюдается обычно только в равнинных мелколиственных лесах и во вторичных лесах хвойной зоны, в местах со сглаженным рельефом, высота которого, как правило, не превышает 300 м над уровнем моря.

На той же высоте, но в березовых и осиновых лесах лесостепного типа, а также в лиственнично-сосновых и березово-осиновых лесах на высоте до 500 м, активность клещей начинается примерно в те же сроки, но заканчивается уже во второй или третьей декаде июля, а иногда даже в первой декаде этого месяца.

Сравнительно раннее окончание активности определяет ее меньшую общую продолжительность, составляющую, как правило, 80–90 дней (2-й тип).

В лесах со значительным участием темнохвойных пород, более поздними сроками снеготаяния и сравнительно небольшой теплообеспеченностью клещи активизируются только в первой декаде мая, а исчезают обычно во второй или третьей декаде июля. Сравнительно позднее начало и ранний конец активности этих членистоногих обуславливает ее короткий общий период. В подавляющем большинстве таких пунктов он продолжается всего 65–80 дней (3-й тип).

4-й тип активности взрослых клещей *I. persulcatus* характеризуется ее ранним началом (середина или даже первая декада апреля) и чрезвычайно поздним окончанием активности (сентябрь — иногда конец октября). Ее общая продолжительность обычно больше 120 и доходит до 140 дней, а в некоторые годы даже несколько больше. Такой тип сезонной активности таежных клещей, видимо, возможен только в условиях оптимальной для них теплообеспеченности и влажности в широколиственно-хвойных лесах Приморья и Приамурья, где, как полагает Г.Н. Леонова (1996а), у имаго, свежеперелинявших из напитавшихся нимф, отсутствует (или может отсутствовать) осенняя поведенческая диапауза.

В далеко отстоящих друг от друга пунктах, но имеющих одинаковый или сходный характер растительного покрова и рельефа, наблюдается однотипный режим сезонной активности клещей. Пик численности взрослых *I. persulcatus* почти повсеместно, включая дальневосточные леса, бывает в последней декаде мая–первой декаде июня. Вместе с тем в одном и том же лесном массиве сроки начала и окончания периода активности, а соответственно его продолжительности, в разные годы не одинаковы и зависят от погодных условий конкретного года (Лыков, Митрофанова, 1971; Коренберг и др., 1974; Бабенко, 1985). Личинки и нимфы таежного клеща активны практически на протяжении всего теплого периода года и в разных регионах могут иметь от одного до двух–трех (особенно нимфы) сезонных подъемов (Бабенко, 1985).

Клещ *I. ricinus* в оптимальных для его существования регионах Южной Европы активен большую часть года, включая осенние, зимние и весенние месяцы с непродолжительными перерывами во время похолоданий. Он обычно имеет здесь продолжительный (до 250–280 дней и более) период активности, сопровождающийся двумя сезонными пиками: весной и в конце лета–начале осени. Соответственно на значительной территории Европы (например, в Латвии, Литве, Белоруссии и западнее) эти периоды наиболее опасны (Nuttall, 2011), тем более что одновременно происходят и сезонные подъемы численности нимф, которые, как уже было упомянуто, часто нападают на людей. В ряде таких регионов осенью нередко бывает даже больше заболеваний, чем в начале лета. В направлении северных и северо-восточных границ ареала лесного клеща период его активности постепенно уменьшается, а второй сезонный пик становится менее продолжительным и выраженным, что характерно для некоторых регионов России (рис. 2.15). Вблизи северной границы ареала, например в Карелии, взрослые

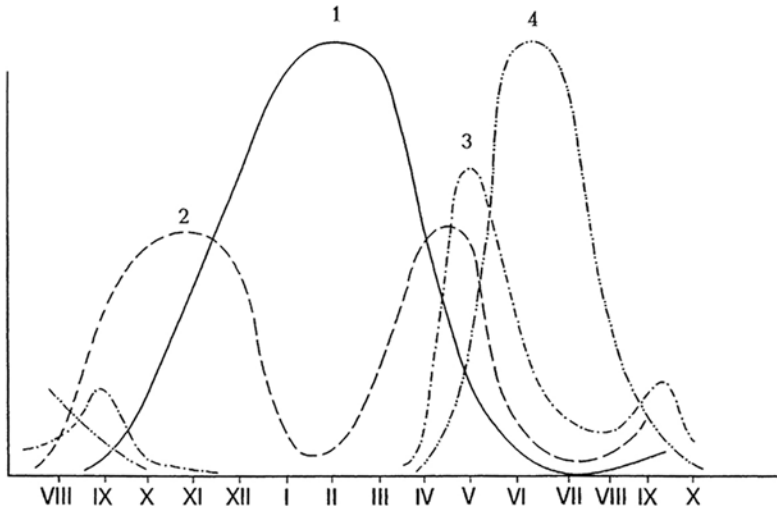


Рис. 2.15. Стилизованные графики типов сезонной активности взрослых клещей *I. ricinus* (по Л.В.Бабенко, 1958):

1 — Алжир (теплая влажная зима и жаркое сухое лето); 2 — Крым (умеренно прохладная зима с редкими морозными днями); 3 — Центр Европейской части России (умеренно-континентальный климат); 4 — Карелия (морозная зима и прохладное лето)

I. ricinus имеют только один сравнительно короткий весенне-летний период активности. В умеренной климатической зоне личинки и нимфы этого вида активны на протяжении всего теплого периода, а весенний и осенний пики выражены в разной степени в зависимости от многолетней климатической нормы и местных условий (Хейсин и др., 1955; Бабенко, 1958; Gigon, 1985; Yousfi-Monod and Aeschlimann, 1986; Gray, 1991; Балашов, 2012; и др.).

Вирус КЭ, по всей видимости, имеет определенные адаптации, которые в конечном итоге обеспечивают его выживание в экосистеме. Репродукция вируса в природном очаге тесно связана с физиологическим возрастом клещей, режимом их активации и изменениями возрастной структуры популяции. В сочетании с ежегодными особенностями погоды это оказывает существенное влияние на колебания параметров зараженности голодных клещей и на вероятность последующей горизонтальной и вертикальной передачи вируса. Размножение вируса в инфицированном клеще особенно интенсивно происходит при формировании его органов и тканей, развития гемоцитов, и при наличии достаточного запаса питательных веществ. Это может, в частности, происходить во время послелинчного доразвития. Увеличению титра вируса в клещах способствует умеренное потепление в верхнем слое почвы во время послезимовочного периода (Мишаева, 1985).

В разные периоды весенне-летнего сезона зараженность свежеективировавшихся клещей довольно сходна, что показывают результаты ежедневного полного вылова взрослых *I. persulcatus* на протяжении всего периода их активации (примерно 70 дней) на постоянных пробных площадках и последующего их инди-

видуального вирусологического исследования. Анализ свежеективировавшихся нимф таежного клеща, проведенный таким же образом, дал аналогичные результаты (Левин и др., 1987). Наиболее высокий титр вируса (7 lg БОЕ/мл) был обнаружен у взрослого клеща, пойманного в июне (табл. 2.7). Тем не менее отмечено и некоторое уменьшение уровня зараженности клещей во второй половине сезона их активности (Окулова, 1986; раздел 2.4.4).

Таблица 2.7. Доля зараженных взрослых *I. persulcatus*, содержащих различные дозы вируса КЭ, среди клещей, активировавшихся в разные сроки на пробных площадках в среднетаежных лесах Хабаровского края (Коренберг и др., 1988).

Последовательные годы	Среди активировавшихся до 15 мая					Среди активировавшихся с 16 мая до полного окончания периода активации				
	Число исследованных	% зараженных клещей	Количество вируса (lg бляшкообразующих единиц на мл)			Число исследованных	% зараженных клещей	Количество вируса (lg бляшкообразующих единиц на мл)		
			минимум	максимум	в среднем			минимум	максимум	в среднем
A	250	6,0	2,0	7,38	6,23	170	5,9	2,0	3,32	2,48
B	365	3,6	2,0	7,00	6,13	460	3,3	2,0	7,60	6,53
C	387	9,3	2,0	7,10	5,97	186	14,0	2,0	4,60	3,57
D	869	9,2	2,0	9,67	7,77	663	4,3	2,0	8,93	7,61

Экспериментальные исследования показали, что вирус КЭ более интенсивно размножается в клещах, которые развиваются без диапаузы, чем в диапаузирующих (Мишаева, 1985). Весной и в начале лета гемипопуляции взрослых *I. persulcatus* обычно состоят из клещей по крайней мере двух абсолютных возрастов: развивавшихся без диапаузы на стадии нимфы и с такой диапаузой. К концу сезона активировываются только клещи, развивавшиеся без диапаузы (Арумова, 1981). Соотношение между этими возрастными группами переносчиков в разные годы меняется. По всей видимости, это один из факторов, влияющих на возможные небольшие сезонные различия зараженности свежеективировавшихся взрослых клещей, которые наблюдаются в отдельные годы. Другим фактором может быть температурный режим в период, непосредственно предшествующий активации клещей: при температуре выше +18 °С у недавно перелинявших самок *I. ricinus* and *D. andersoni*, парентерально зараженных вирусом КЭ, его титры довольно быстро уменьшаются, и при +37 °С он сохраняется всего 5–7 дней. Даже при стабильной температуре, по мнению экспериментаторов, более или менее благоприятными для клещей (+18 °С), чем дольше они остаются без пищи, тем ниже титры вируса (Мишаевой и др., 1990).

Кроме того, сезонная динамика зараженности взрослых клещей может меняться в разные годы даже в одном и том же природном очаге. Исследования, проведенные, например, в течение двух лет неизменными методами сбора и вирусологического

анализа клещей в очаге, расположенном в европейских южно-таежных лесах, дали следующие результаты. В первый год, частота выделения вируса КЭ от взрослых *I. persulcatus* в мае (15% биопроб были положительными) оказалась примерно в два раза выше, чем в июне и июле. В следующем году, этот показатель остался примерно на том же уровне в течение всего сезона активности клещей: 7,2% в мае, 7,9% в июне и 5,5% в июле (Пчелкина и др., 1970.). У *I. ricinus* изначальная зараженность появляющегося осенью нового поколения клещей, по-видимому, остается более или менее неизменной в течение зимнего холодного периода. Именно поэтому исследования, проведенные в регионах с таким климатом, не раскрывают сезонную динамику зараженности нимф и взрослых клещей в течение периода их активности (Окулова, 1986).

Таким образом, сезонные изменения зараженности взрослых активных голодных клещей в природе, как правило, определяются содержанием вируса в отдельных особях при активации, а также продолжительностью их индивидуального непаразитического существования, в период которого может происходить некоторая потеря вируса (Павловский, 1947; Савойский и Чагин, 1947; Ягодинский и Александров, 1962; Унанов и др., 1965; Окулова и др., 1973; Катин, 1983). В разных регионах эти процессы имеют некоторые особенности. На юге Приморья, например, где активация взрослых *I. persulcatus* начинается рано, их зараженность в июне может быть примерно в три раза выше, чем в апреле.

Описанные закономерности активации, продолжительности периода активности переносчиков и возможные сезонные отличия в уровне их зараженности вирусом определяют сезонность трансмиссивных и алиментарных заражений людей вирусом КЭ и распределение по месяцам. В целом на территории России инфицирование людей чаще происходит весной и в первой половине лета во время наибольшей сезонной численности клещей, которая определяет частоту их

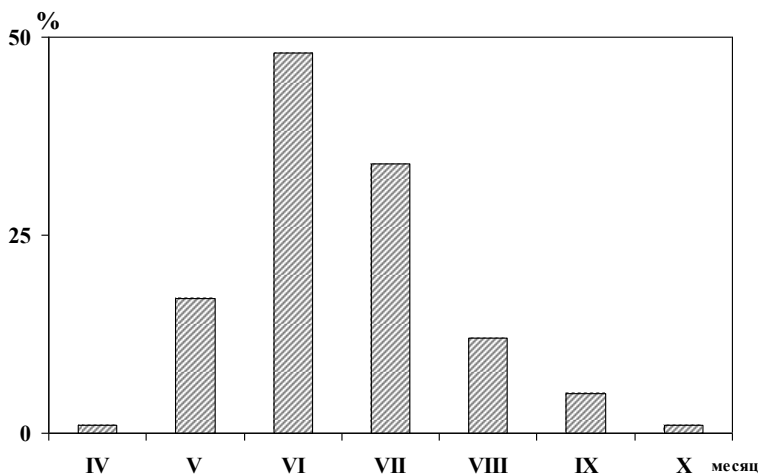


Рис. 2.16. Динамика заболеваемости клещевым энцефалитом в России по месяцам (в процентах от суммы заболеваний за год, по многолетним данным Л.И. Ивановой, 1969).

нападения на людей. Пик заболеваний отстает от сезонного пика численности клещей на 2–3 недели (средний инкубационный период заболевания) и приходится на июнь–первую половину июля (рис. 2.16). Во второй половине лета численность клещей в природе и интенсивность их нападения на людей снижаются, однако риск заражения остается еще значительным (рис. 2.13). Заболевания, которые возникают в августе–октябре, связаны с длительным периодом активности взрослых *I. persulcatus* в южной части Дальнего Востока, а также со вторым позднелетне-осенним появлением нимф и имаго *I. ricinus*.

Годовой уровень и его изменения. Ретроспективно установлено, что заболевания КЭ были на Дальнем Востоке (И. С. Альтшулер, А. Г. Панов, А. Н. Шаповал), в Поволжье, на Урале (В. П. Первушин, В. Д. Соловьев) и в Ярославской области (В. Н. Ключников) еще в конце XIX–начале XX века. В первые годы изучения КЭ на Дальнем востоке заболеваемость среди вновь прибывших составила 137 на 10 тыс. населения, а среди старожилов не превышала 57 (Данковский, 1939; Ольшевская, 1939). Официальные данные о заболеваемости КЭ в предвоенный период имеются только для 1939 (272 случая) и 1940 (82 случая) гг., что, разумеется, ни в коей мере не отражает действительный ее уровень. В годы Великой Отечественной войны участились случаи КЭ среди военнослужащих на Дальнем Востоке (Шаповал, 1961). Значительная вспышка наблюдалась весной и летом 1942 и 1943 гг. в войсковых частях Волховского фронта, главным образом на территории ряда районов Ленинградской области (Петрищева, Левкович, 1945). В целом в 1941–1945 гг. по официальным данным было выявлено 1008 случаев КЭ. Начиная с послевоенного периода и до 1990 г., как по официальным статистическим данным, которые, по всей видимости, были завышены в 1,2–1,6 раза за счет не диагностировавшихся тогда заболеваний ИКБ (Коренберг, Лихачева, 2004; раздел 3.5.3), так и по уточненным представлениям, по характеру динамики заболеваемости КЭ довольно четко просматриваются три этапа (Korenberg, 1997; Коренберг, 1999, 2003; Korenberg and Kovalevskii, 1999; рис. 2.17):

1) До 1964 г. — этап подъема заболеваемости, объясняющийся, с одной стороны, постепенным улучшением лабораторной и клинической диагностики, что способствовало выявлению более легких клинических форм заболевания, а с другой стороны — истинным увеличением числа случаев. В год введения официальной регистрации КЭ (1948) заболевания были отмечены уже в 21 административной области, причем на Дальний Восток приходилось только 17,6 % всех (525) случаев, а 45,6 % из них — на районы Урала. Повсеместная регистрация практически началась только в середине 50-х годов. По официальным данным до 1952 г. заболеваемость в основном имела спорадический характер. В общей сложности в РСФСР ежегодно регистрировалось не более 816 (1950 г.) случаев КЭ, что составило 0,7 на 100 тыс. человек. С 1952 г., в связи с привлечением сотен тысяч работников для строительства ряда крупных промышленных объектов в лесной зоне, широким размахом лесозаготовительных работ (в лесной промышленности было занято более 1,2 млн рабочих), существенно увеличился контакт населения с природными очагами, и начался резкий подъ-

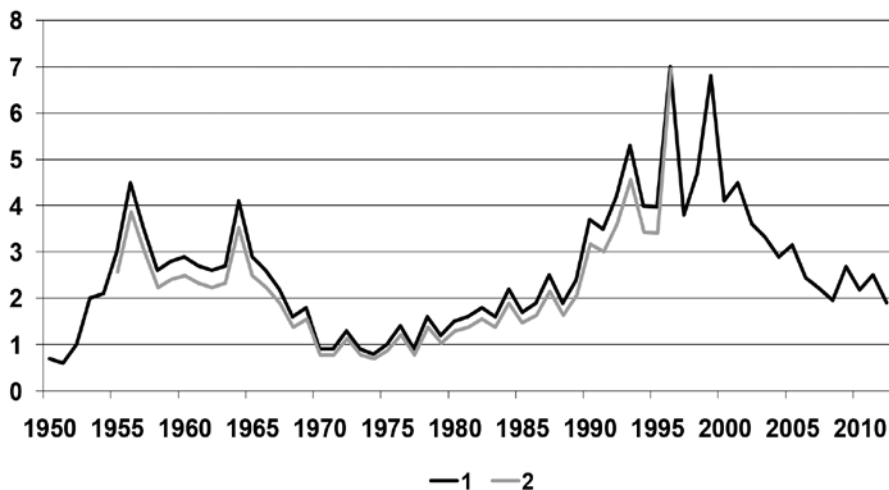


Рис. 2.17. Динамика заболеваемости (число случаев на 100 тыс. человек) клещевым энцефалитом в России по официальным статистическим (1) и уточненным (2) данным (Коренберг, Лихачева, 2004; Korenberg, Likhacheva, 2006).

ем заболеваемости. Вначале это происходило в Западной Сибири (Кемеровская, Томская области), а затем в Предуралье и на Урале (в Удмуртской АССР, Пермской и Свердловской областях). Первый пик заболеваемости пришелся на 1956 г. (5163 случая; 4,5 на 100 тыс. человек), когда она была зарегистрирована уже в 37 областях, краях и АССР, причем 52,5 % всех случаев приходилось на Западную Сибирь и 34,3 % на Приуралье и Урал. К концу 50-х–началу 60-х годов КЭ регистрировали уже в 41 крупной административной территории, от Калининградской области на западе до Сахалина на востоке. В 1964 г. отмечен второй пик заболеваемости (5205 случаев; 4,1 на 100 тыс. человек). В среднем с 1952 по 1964 г. включительно в год было выявлено около 3500 случаев КЭ. К этому времени стало ясно, что на фоне долговременных тенденций, существуют периодические спады и подъемы заболеваемости по годам (Иванова, 1969).

2) С 1965 по 1971 г. — 17-летний этап ежегодного снижения заболеваемости (с 3658 случаев и 2,9 на 100 тыс. человек в 1965 г. до 1226 случаев и 0,9 на 100 тыс. человек в 1971 г.), связанного, главным образом, с большим объемом работ по неспецифической профилактике КЭ (раздел 8.3.1). В среднем в этот период в 46 административных территориях ежегодно было 2400 случаев КЭ. Наибольшие показатели интенсивности заболеваемости (на 100 тыс. человек) сохранялись на Урале (до 9,3) и в Западной Сибири (до 8,8). На эти регионы приходилось соответственно до 44,8 % и 31,5 % всех зарегистрированных случаев КЭ. Вместе с тем по сравнению с последними годами предыдущего этапа заметно увеличилась аналогичная доля северных, северо-западных и особенно центральных областей, где борьба с клещами не проводилась или осуществлялась в незначительном объеме.

3) С 1972 по 1990 г. — вновь этап постепенного возрастания заболеваемости (с 1742 случаев и 1,3 на 100 тыс. человек до 5486 случаев и 3,7 на 100 тыс. человек в 1990 г.) до уровня 1964 г., которое объясняется почти полным прекращением борьбы с переносчиком и последовавшим за этим восстановлением лоймопотенциала обработанных ранее природных очагов. Хотя в среднем в этот 19-летний период регистрировалось также около 2400 случаев КЭ в год, после 1985 г. их ежегодно стало значительно больше.

Несмотря на разную направленность многолетних изменений заболеваемости, в целом реально наблюдавшийся уровень эпидемического проявления природных очагов КЭ на протяжении рассмотренных периодов укладывался в определенные рамки: для отдельных крупных административных территорий максимальные показатели заболеваемости были выше минимальных не более чем в 9–14 раз. Для большинства областей эти различия были еще меньше. Вместе с тем благодаря существовавшей централизации статистических данных о заболеваемости по административным районам, удалось выяснить, что в тот период (как, видимо, и сейчас) на протяжении любого произвольно выбранного десятилетия (два-три полных цикла развития таежного клеща) территориальное распределение заболеваний очень неравномерно. Так, в 1971–1980 гг. (табл. 2.8) в пределах всего нозоареала было 18 административных районов со среднегодовым числом случаев КЭ более 10 и всего 68 районов, где хотя бы в одном году этого десятилетия было зарегистрировано более 10 заболеваний (Коренберг и др., 1986; Коренберг, 1989).

Таблица 2.8. Распределение административных районов России по степени регулярности регистрации случаев клещевого энцефалита в 1971–1980 гг. (Всего около 770 неблагополучных районов)

Число лет	% административных районов	
	С данным общим числом лет регистрации КЭ	С данным максимальным числом лет непрерывной регистрации КЭ
1	27,3	42,9
2	20,8	24,9
3	12,9	12,3
4	10,0	4,8
5	5,4	3,0
6	6,8	2,2
7	4,5	2,0
8	3,3	0,9
9	3,3	1,3
10	5,7	5,7

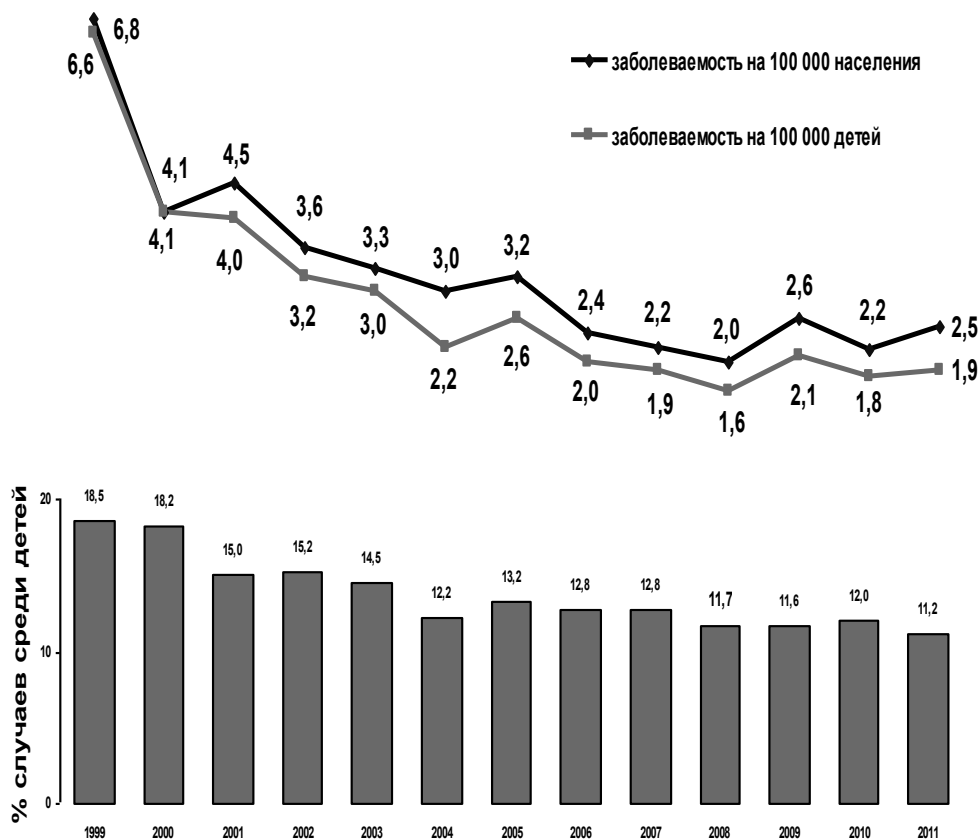


Рис. 2.18. Заболеваемость клещевым энцефалитом среди детей до 14 лет (1999-2011 гг.). По статистическим данным в 2006-2012 гг.

1991–1999 гг. отличались максимальными показателями заболеваемости за все годы регистрации КЭ. В 1992 г. зарегистрировано 6301, в 1993 г. — 7893, в 1996 г. — 9548, а в 1999 г. — уже 9955 случаев или 6,8 на 100 тыс. человек («рекордно» высокие показатели). В среднем за этот период ежегодно было выявлено около 7050 случаев КЭ в общей сложности примерно в 1600 административных районах 49 областей, краев и автономных республик. Такой стремительный рост заболеваемости объясняется, с одной стороны, резко увеличившимся риском заражения городских жителей, а с другой — почти полным отсутствием способов и возможностей массовой профилактики КЭ (разделы 2.5.4; 8.2 и 8.3). Резко возросла заболеваемость среди детей (рис. 2.18). В 1999 г., например, ее интенсивность составила 6,6 на 100 тыс. Более 40 % всех случаев было зарегистрировано на Урале и в Предуралье (в Пермской, Свердловской областях и Удмуртии) и более 30 % в Западной Сибири (Томская, Кемеровская, Новосибирская области). По показателям интенсивности заболеваемости лидировали Западная Сибирь, Урал и Восточная Сибирь, где она была примерно в 4–25 раз

выше, чем в других регионах. Тем не менее, исходя из общих представлений об эпидемиологии природноочаговых инфекций (раздел 1.2), было понятно, что рост заболеваемости КЭ не будет беспредельным (Коренберг и др., 1986), и ее показатели неизбежно должны стабилизироваться (с некоторыми колебаниями по годам) на уровне, который определяется возможными изменениями лоймопотенциала природных очагов и, в еще большей степени, интенсивностью контакта населения с ними (Коренберг, 2003).

Так и произошло: современный период характеризуется постепенным снижением заболеваемости с 2000 г., причем ее некоторый следующий подъем, наблюдающийся обычно через каждые 3 года, ниже предыдущего. В целом показатели заболеваемости в 2010–2011 гг. примерно аналогичны уровню 1990–1991 гг. (рис. 2.15). Около 20 % всех случаев КЭ приходится на европейскую часть страны, столько же на Урал и Приуралье и около 35–37 % — на Сибирь. При этом 40–45 % общероссийского числа заболеваний приходится в сумме всего на 5 субъектов РФ: Кировскую, Свердловскую и Кемеровскую области, Пермский и Красноярский края (табл. 2.9).

Таблица 2.9. Субъекты Российской Федерации с наиболее высокими (более 5,0 на 100 000 человек) показателями интенсивности заболеваемости КЭ в 2009 г. (всего по РФ 3721 случай; общий показатель заболеваемости — 2,62)

Республика Карелия 45–1,2–6,5	Пермский край 297–7,9–10,90	Республика Тыва 48–1,3–15,46
Архангельская область 121–3,2–9,81	Свердловская область 222–6,0–5,05	Республика Хакасия 100–2,7–18,62
Вологодская область 132–3,5–10,77	Тюменская область 74–2,0–5,60	Красноярский край 594–15,7–20,54
Костромская область 90–2,4–12,86	Челябинская область 110–3,0–3,13	Кемеровская область 200–5,4–7,08
Удмуртская Республика 116–3,1–7,56	Республика Алтай 53–1,4–25,70	Новосибирская область 172–4,6–6,52
Кировская область 261–7,0–18,38	Республика Бурятия 62–1,7–6,46	Томская область 158–4,2–15,28

Цифры: число случаев — их доля (%) от общего числа заболеваний, зарегистрированных в России — показатель заболеваемости на 100 000 человек.

Абсолютные показатели заболеваемости в 18 западных странах (табл. 2.10) свидетельствуют о том, что и на территории Европы КЭ распространен очень неравномерно. В нескольких странах (Дания, Норвегия, Франция) заболевания встречаются почти ежегодно, но спорадически. В Италии и Хорватии среднегодовое число случаев в последние годы не превышает 15–30; в Австрии, Венгрии, Словакии и Финляндии — 50–100; в Швеции и Швейцарии — около

120–130. Большое число заболеваний приходится на Германию, Польшу, Словению и Эстонию (в среднем в год 200–260 случаев), а наибольшее — в Латвии, Литве (в среднем примерно 370 в год), а также в Чехии (среднегодовое число заболеваний — более 500). Приведенные цифры лишь весьма условно характеризуют уровень заболеваемости КЭ в этих странах, которые отличаются не только по численности и плотности населения, но и по системе организации здравоохранения в целом и порядку учета инфекционных заболеваний в частности. Тем не менее табличные данные позволяют предполагать, что в преимущественно равнинных странах подъем заболеваемости бывает через каждые 2–3 года, а в странах с разнообразным рельефом и значительной гористой частью территории (Австрия, Венгрия, Швейцария) — через каждые 3–4 года, что может быть обусловлено местными особенностями цикла развития клещей *I. ricinus*. В сумме во всех названных европейских странах в год бывает до 3,5 тыс. заболеваний КЭ, и только в 1994 и 1995 гг. их было соответственно 4513 и 4093. В Белоруссии (Karaban et al., 2009) в 1998–2007 гг. в среднем было 52 случая КЭ в год; заметное нарастание заболеваемости отмечено с 2002 г. (с 0,18 на 100 тыс. человек) по 2006 г. (до 1,11).

Таблица 2.10. Число случаев клещевого энцефалита в странах Европы (по <http://www.tbe-info.com/>; Süss, 2011).

Год	Австрия	Венгрия	Германия	Дания	Италия	Латвия	Литва	Норвегия	Польша	Словакия	Словения	Финляндия	Франция	Хорватия	Чехия	Швеция	Швейцария	Эстония
1996	128	224	114	?	8	309	716	?	257	101	406	10	1	57	571	44	62	177
1997	99	99	211	?	8	874	645	?	201	76	274	19	1	25	415	76	123	404
1998	62	84	148	1	11	1029	548	1	209	54	136	17	2	24	422	64	68	387
1999	41	51	115	4	5	350	171	1	101	57	150	12	5	26	490	53	112	185
2000	60	45	133	3	15	544	419	2	170	92	190	41	0	18	719	133	91	272
2001	54	76	253	1	19	303	298	1	205	76	260	33	0	27	411	128	107	215
2002	60	80	226	1	6	153	168	2	126	62	262	38	2	30	647	105	53	90
2003	82	114	278	4	14	365	763	1	339	74	275	16	6	36	606	105	116	237
2004	54	89	274	8	23	251	425	3	262	70	204	31	7	38	500	160	138	182
2005	100	52	431	4	22	142	242	3	174	28	297	17	0	28	642	130	206	164
2006	84	56	546	?	14	170	462	3	316	91	373	18	6	20	1029	163	259	171
2007	45	62	238	2	4	171	234	13	233	46	199	20	7	12	542	190	113	140
2008	86	70	285	1	34	181	220	9	202	77	246	23	10	20	630	224	127	90
2009	79	64	313	1	32	328	617	8	335	71	307	26	?	?	816	211	118	179

Жирным шрифтом выделены цифры предполагаемых циклических подъемов заболеваемости.

В целом КЭ свойственна калейдоскопическая пестрота ежегодно меняющейся картины распределения заболеваний по территории громадного нозоареала (табл. 2.8), сочетающаяся с периодическими (через каждые 3–5 лет) несинхронными ее подъемами в различных регионах (Коренберг и др., 1990). При одновременном увеличении числа случаев в нескольких регионах наблюдается особенно заметный общий подъем заболеваемости. Вместе с тем существуют хорошо контурируемые части нозоареала, где сочетание природных и социальных факторов благоприятствует тому, что в любые годы заболеваемость выше, чем в остальных частях нозоареала. В России эти пятна находятся в Вятско-Камском междуречье, на Среднем Урале, на юге Западной Сибири и Дальнего Востока (Неронов, Иванова, 1965; Кучерук и др., 1969; Коренберг и др., 1990; Коренберг, Ковалевский, 1981). В Европе (за пределами России) одна наиболее эпидемически проявляющаяся совокупность природных очагов находится на территории Латвии, Литвы, северо-восточной Польши и западной Белоруссии, а другая — в юго-западной Чехии и юго-восточной Германии (Коренберг, Ковалевский, 1981; Tick-Borne..., 1997).

Попытка связать колебания эпидемического проявления природных очагов КЭ с солнечной активностью (Ягодинский, 1977) оказалась мало продуктивной (Бериков и др., 2011). Между тем размах этих колебаний не беспределен, и в течение достаточно длительного отрезка времени, измеряемого двумя–тремя десятилетиями, в любом очаговом регионе укладывается в довольно четко выраженные рамки (Коренберг и др., 1986). В самой общей форме можно заключить, что КЭ, как и любой другой инфекции, свойственны определенные пределы интенсивности эпидемического проявления, которые зависят от изменения степени воздействия основных факторов, воздействующих на эпидемический процесс (Коренберг, Юркова, 1983; Коренберг, 1985; рис. 1.1).

Причины «рекордных» пиков. После довольно продолжительного периода относительно невысокой заболеваемости КЭ, который продолжался около 20 лет, с начала 90-х годов прошлого столетия наступил ее резкий подъем. Абсолютный «рекорд» показателей был отмечен в России в 1996 г. и чуть меньше — в 1999 г. (см. выше). Среднегодовые показатели заболеваемости за 1996–2002 гг. оказались в 2,5–3 раза больше, чем во всех зарубежных европейских странах вместе взятых (Gritsun et al., 2003).

В последние два десятилетия по общеизвестным причинам в нашей стране в целом заметно снизилось число исследований в области КЭ и других природноочаговых инфекций. Кроме того, санитарно-эпидемиологическая служба переживала затянувшуюся и пока еще не вполне завершившуюся повсеместную структурно-функциональную реорганизацию. Эти процессы привели к значительной утрате, переориентации и физической смене опытных кадров. Особенно остро ощущается нехватка квалифицированных эпидемиологов и паразитологов.

В отечественной и зарубежной литературе для объяснения современной эпидемической ситуации нередко «реанимируют» неоправдавшиеся гипотезы

или в качестве вновь появившихся причин ее осложнения указывают на действие давно известных и неплохо изученных факторов. Такие трактовки обычно не учитывают сложность экологических процессов, лежащих в основе эпизотологии и эпидемиологии КЭ, которые конспективно изложены в предыдущих разделах. Между тем, чтобы заранее предвидеть возможность повторения подобного «неожиданного» и «беспрецедентного» всплеска заболеваемости, важно понять, какова его основная причина и действительно ли он обусловлен какими-то новыми чертами природной очаговости КЭ, которые появились в последние полтора десятилетия. Наиболее распространенные объяснения необычного повышения уровня заболеваемости КЭ в конце прошлого века сводятся к следующим причинам (Алексеев, 2004, 2007; Злобин, 2004, 2006; Данчинова, 2007; Погодина и др., 2007; Львов, Злобин, 2007; Коротков, 2008; Gray, 2008; Gray et al., 2009 и др.).

Это глобальное потепление климата, вследствие которого:

- происходит расширение ареала основных переносчиков — таежного и лесного клещей;
- заметно увеличилась их численность и зараженность вирусом;
- эти клещи проникли в крупные города, где возникли природные очаги и происходят заражения людей;
- природные очаги сформировались на территориях, где их ранее не было.

А также среди причин — формирование множества антропоургических очагов и резкое увеличение доли городских жителей в общей структуре заболеваемости.

Большинство из этих факторов, особенно те, которые связывают с потеплением климата, должны действовать длительное время и, разумеется, не могут быть причиной снижения уровня заболеваемости. Между тем именно это происходит в последние годы как в отдельных регионах, так и в России в целом (рис. 2.17). К 2006 г. показатель интенсивности заболеваемости в стране снизился до 2,44 на 100 тыс. человек (Онищенко и др., 2007). Это в 2,8–2,9 раза меньше, чем в 1996 и 1999 гг. и примерно соответствует показателю 1989 г. (Коренберг, 2003), после которого как раз и начался подъем заболеваемости, продолжавшийся 10 лет. В 2008 г. показатели заболеваемости оказались еще ниже: зарегистрировано около 2800 случаев или 1,96 на 100 тыс. человек. Попытки обнаружения корреляции между числом случаев КЭ на 100 тыс. жителей в некоторых регионах в 1970–2006 гг. и рядом климатических (главным образом температурных) показателей этого периода (Коротков и др., 2007) не дали убедительных результатов. В европейских странах динамика заболеваемости в последние 20 лет была существенно различной, а ее пиковые значения отмечены в совершенно разные годы (Süss, 2011; табл. 2.10).

Мнение о влиянии глобального потепления на природные очаги КЭ и их эпидемическое проявление стало сегодня довольно распространенным в научных кругах (Daniel et al., 1998; Алексеев, Лобзин, 2005; Алексеев, 2007; Алексеев и др., 2008; Estrada-Pena, 2008, 2009; Mansfield et al., 2009; Lukan et al., 2010; Tokarevich

et al., 2011; Süss, 2011), а также среди некоторых работников санэпидслужбы, поскольку оно в какой-то мере позволяет «списывать на природу» объективные недостатки в организации эпиднадзора и профилактики. Причем с помощью этого «универсального инструмента» объясняют не только повышение уровня заболеваемости, но и ее последующее понижение (Коротков, 2008). Сегодняшние представления по этому поводу — результат не критичного восприятия предположений зарубежных исследователей. По их прогнозу такие изменения климата в летнее время перенесут в 2020–2080 гг. распространение КЭ в высокие широты и верхние высотные пояса горных систем. При этом к 2080 г. северная граница его ареала продвинется до южной Скандинавии, включая южную Финляндию (Randolph, 2000; Randolph, Rogers, 2000), где, кстати говоря, КЭ известен с конца 50-х годов прошлого века (Кучерук и др., 1969; Коренберг, Ковалевский, 1981). Между тем, эта идея отнюдь не нова. Еще в 1965 г., после десятилетнего подъема заболеваемости КЭ, Н. Б. Бируля и Л. И. Залуцкая (1965) выдвинули гипотезу, согласно которой основным его условием «...было глобальное потепление климата в истекшее столетие вообще и в последнее десятилетие в особенности». Однако уже в следующем году начался длительный период снижения уровня заболеваемости, причем это произошло даже раньше, чем были опубликованы первые критические соображения в адрес этой гипотезы (Коренберг, Иванова, 1967). Ее оценка в целом изложена. Однако предварительно следует рассмотреть конкретные факты, которые, как полагают современные исследователи, объясняются глобальным потеплением.

В доказательство расширяющегося распространения основных переносчиков вируса КЭ под влиянием климатических факторов приводят единичные находки клещей на значительном расстоянии к северу и даже к югу от «прежних» границ их ареалов, хотя некоторые исследователи предвещают, что «изменение структуры растительного покрова и увеличение сухости у южных границ ареалов переносчиков рода *Ixodes* приведет к сдвигу южных границ КЭ и боррелиозов к северу» (Алексеев и др., 2008, С. 119). В Западной Сибири, например, ничего подобного пока не отмечено, а вблизи южной границы таежного клеща отмечено даже нарастание численности некоторых его популяций (Малькова и др., 2011). Отдельные находки *I. persulcatus* далеко от этих границ известны уже очень давно. Этот вид был, например, обнаружен недалеко от Туруханска, почти на 66-й параллели и даже севернее 72° северной широты на полуострове Таймыр (Коренберг и др., 1969). Аналогичные по смыслу сведения многократно приводились в литературе и для клеща *I. ricinus* (Коренберг и др., 1971). Такие находки время от времени, несомненно, будут и в дальнейшем. Сами по себе они не могут быть доказательством сдвига границ ареала переносчиков под влиянием изменений климата, а лишь свидетельствуют о возможности заноса этих членистоногих на ту или иную территорию. Это, как известно, характерно для очень многих видов, способных паразитировать на высокоподвижных хозяевах (например, на птицах). Не исключено, что у занесенных клещей даже может быть обнаружен

вирус КЭ или его кДНК. Такие факты еще не говорят о возможности его длительной циркуляции, о формировании природного очага на данной территории, и их нельзя рассматривать как доказательство расширения ареала возбудителя. Хорошо известны и вертикальные пульсации границ обитания животных, включая многих членистоногих, даже при сравнительно непродолжительном изменении метеорологических условий в горной местности. По существу именно такие явления хорошо документированы в последние годы в отношении *I. ricinus*, который появился на большей высоте по сравнению с 70–80 гг. прошлого века (Danielová et al., 2006, 2008, 2010; Daniel et al., 2008; Materna et al., 2008; Holzmann et al., 2009). Сами по себе эти факты не вызывают никаких сомнений. Вопрос в том, имеют ли они отношение к глобальному потеплению, поскольку при ухудшении метеорологических условий в горах на протяжении нескольких лет подряд ситуация может вернуться «на круги своя». Анализируя изменения в уровне численности и распространении *I. ricinus* в Швеции за последние 30 лет (с начала 80-х годов прошлого века), авторы (Jaenson et al., 2012) констатировали рост численности клещей в южных и центральных районах страны и их проникновение в более северные районы. Эти явления они связывают с увеличением численности европейской косули — важнейшего прокормителя клещей, а также с мягкими зимами и удлинением вегетационного периода, что благоприятно влияет как на клещей, так и на косуль. Остается, однако, неясно о чем именно идет речь: о расширении ареала *I. ricinus* или о его пульсации близ северной границы, поскольку описываемые процессы в той или иной форме могли происходить еще в 60-е годы во время аналогичного цикла изменения климатических условий.

Потепление климата совсем не обязательно должно действовать на клещей (и вирус КЭ — см. ниже) как благоприятный фактор. Есть мнение, например, что *I. persulcatus* не выдерживает зимние оттепели, которые обычны при январской температуре выше -5°C (Коротков, 2008). Чрезвычайно важное экологическое значение, особенно для членистоногих, имеет соотношение температуры и влажности (Кашкаров, 1944; Наумов, 1955; Ацци, 1959; Яхонтов, 1964; Коренберг, Ковалевский, 1981). Границы ареалов переносчиков КЭ зависят от наличия гидротермических условий, необходимых и достаточных для их развития. Однако в основе механизма синхронизации сложного жизненного цикла клещей лежит их реакция на длину дня. Поэтому возможность существования этих членистоногих в световых условиях конкретной географической широты определяется не только общей суммой температур. Клещи должны успеть завершить каждый этап развития в строго определенные сроки, а для этого им нужно получать необходимое количество тепла в конкретный календарный отрезок времени (Korenberg, 2000; Randolph et al., 2000; раздел 2.4.2). Вблизи границы ареала популяция клещей обычно имеет своеобразный тип пространственной структуры, при котором абсолютно преобладают нулевые показатели их численности (рис. 2.12). Только соответствующие результаты репрезентативного рандомизированного учета позволяют считать, что она действительно существует на данной территории (Кова-

левский и др. 1969). Кроме буквально единичного исключения (Ливанова, Ливанов, 2006) в современной литературе такие данные вообще отсутствуют.

Поскольку показатели заболеваемости населения в конкретном регионе существенно зависят от уровня численности клещей, изучению закономерностей ее динамики раньше уделяли большое внимание. Начиная с середины прошлого века, многими исследователями в разных частях обширного ареала таежного клеща было убедительно показано, что для этого переносчика характерны циклические колебания численности, обычно сопровождающиеся ее повышением каждый третий год (Korenberg, 1976). Повышение уровня заболеваемости КЭ, о котором идет речь, связывают с общим ростом численности клещей (Онищенко и др., 2007). Его объясняют антропогенной трансформацией лесов, что, несомненно, происходило (см. ниже), и глобальным потеплением (Злобин, 2006). Такое заключение должно быть основано на многолетних данных о численности клещей, полученных в одних и тех же пунктах по стандартизированной методике. Но, к сожалению, мониторинг состояния природных очагов КЭ на постоянных стационарах в большинстве субъектов РФ не проводится уже минимум 10–15 лет. Материалы, полученные там, где такие наблюдения сохранились, показывают, что за это время в целом не произошло сколько-нибудь существенного нарастания численности клещей. Так, в горнотаежных лесах Пермского края в 2005 г., который был годом трехлетнего циклического пика численности, ее показатель (445 взрослых голодных *I. persulcatus* на 1 га) был даже заметно ниже, чем в аналогичном цикле 1993 г. (835 особей на 1 га); следующие годы (1994 и 2006) характеризовались (по материалам Ю.В. Ковалевского и др.) довольно сходными цифрами: соответственно 663 и 610. По данным десятилетнего мониторинга в южнотаежных лесах Красноярского края (Хазова, 2007) в 2006 г. среднесезонный показатель численности клещей на километровом маршруте (14,4) был практически таким же, как и в 1997 г. (14,8). Результаты регулярных многолетних учетов клещей, которые были проведены в Минусинской котловине с 1995 г. по 2010 г., показывают, что сколько-нибудь заметного нарастания их численности не произошло (Данчук и др., 2012). Утверждение о том, что с начала 90-х годов прошлого столетия наблюдается «повсеместный подъем численности иксодовых клещей» (Карганова, 2011), представляется совершенно бездоказательной и надуманной фигурой речи.

В некоторые годы зафиксировано более раннее начало активности *I. ricinus* весной и более позднее ее окончание осенью, которое связывают с глобальным потеплением (Daniel et al., 1998). Есть предположение, что аналогичные изменения происходят и с *I. persulcatus* (Алексеев и др., 2008), и уже появилась информация о существенном (примерно на 60–70 дней) удлинении в последние годы общего периода сезонной активности взрослых таежных клещей в некоторых регионах (например в Восточной Сибири), связанного с потеплением климата. Эти выводы сделаны не на основе результатов непосредственного учета клещей на растительности, а по регистрации самых ранних и самых поздних дат обращений людей в медицинские учреждения для удаления прикрепившегося клеща. Как от-

мечают сами авторы (Никитин, Антонова, 2005), время регистрации первых случаев нападения клещей изменилось незначительно и обычно приходится на первую декаду апреля. Заметно более поздними стали сроки окончания нападения клещей, причем в августе и несколько позднее всегда наступает период активности личинок и нимф клещей рода *Dermacentor* и взрослых клещей *Haemaphysalis concinna*. Между тем видовая принадлежность клещей в медицинских учреждениях не фиксировалась, и следовательно в данном случае нет никаких оснований говорить об удлинении сезона активности *I. persulcatus*, тем более, что продолжительность периода активности клещей, как давно известно, может существенно изменяться в одном и том же месте в зависимости весенне-летних погодных условий конкретного года (раздел 2.5.4).

Известно, что колебания зараженности клещей вирусом КЭ слабо связаны с изменениями их численности (Ковалевский и др., 1988; раздел 2.5.3). Представления об уровне зараженности членистоногих в различных регионах страны в прежние годы, как правило, основывались на данных его изоляции на лабораторных животных (Наумов, Гугова, 1977). Уже почти полтора десятилетия вирус КЭ выявляют в клещах значительно более чувствительным методом ИФА. Результаты, полученные двумя этими способами, как отмечено выше (раздел 2.4.4), совершенно несопоставимы, что не принимают во внимание, говоря об увеличении зараженности *I. persulcatus* и *I. ricinus* в связи с климатическими изменениями за последние 30 лет (Коротков и др., 2007; Беспятова и др., 2008). Высокий процент зараженности клещей, отмеченный в ряде областей России, например в 2006 г. (Онищенко и др., 2007), сам по себе также не свидетельствует о таких изменениях, как и высказывания по этому поводу в многочисленных тезисных публикациях, которые вообще не подкреплены фактами. В одном и том же природном очаге, но в разные годы минимальные показатели зараженности клещей могут отличаться от максимальных в 3–10 раз (Ковалевский и др., 1989; Хазова и др., 2010). Между тем результаты наблюдений, проводившиеся в течение 10 лет на постоянном стационаре в Восточной Сибири (Красноярский край), показывают, что на фоне обычных колебаний зараженности клещей по годам ее показатели в 2003–2006 и 2009 гг. не только не увеличились по сравнению с 1997–2002 гг., но даже заметно снизились (Хазова, 2007; Хазова и др., 2010). По данным, которые любезно представлены нам В. В. Романенко, нарастание зараженности таежных клещей вирусом КЭ не отмечено с 1999 по 2007 г. и в Приуралье (Свердловская область). Сопоставление фактических данных (Danielová et al., 2002) показывает, что если принимать во внимание различия в чувствительности методов, применявшихся для выделения вируса, в природных очагах Центральной Европы уровень зараженности клещей *Ixodes ricinus* вирусом КЭ в 2000 г. остался примерно таким же, как и в конце 70-х годов. В этой связи важно принимать во внимание, что воздействие температурного режима, как и других абиотических факторов, непосредственно на популяцию вируса КЭ практически почти не изучено, и потепление совершенно не обязательно должно оказывать благоприятное воздей-

ствии. Экспериментально показано, например, что развитие нимф *I. ricinus* при температуре +15°С или при +24°С не влияло на уровень зараженности взрослых особей, а изменение относительной влажности при тех же температурных условиях оказывало влияние на относительное количество развившихся взрослых особей с вирусом (Danielova, 1990). В других экспериментах длительное пребывание клещей при повышенной положительной температуре (+37°) приводило к быстрому падению титра вируса. При снижении температуры до +9 — +14°С вирус сохранялся в клещах до года. При температуре +22°С, но постоянно уменьшающейся влажности, титры вируса заметно снижались уже через 2 месяца, а через 7 месяцев вирус в таких условиях вообще не обнаруживается (Мишаева, 1975; Мишаева, Ерофеева, 1979). Длительное содержание клещей этого вида при +20°С снижает их способность быть реципиентами вируса при кормлении на инфицированных животных (Мишаева, 1976). По мнению некоторых исследователей (Болотин, Горковенко, 1998; Коротков, 2005), которое не лишено оснований, на формирование патогенных свойств вируса КЭ, по всей вероятности, положительно воздействуют низкие зимние температуры и продолжительный холодный период года. Континентальность климата, как известно, уменьшается в Евразии с востока на запад. Это проявляется, в частности, в увеличении продолжительности теплого периода и заметном повышении температуры в зимние месяцы. В целом в этом же направлении уменьшается вирулентность вируса КЭ и, как следствие, тяжесть заболеваний людей (Болотин, 1999; Коротков, 2005). Это дало основание предположить (Болотин, Горковенко, 1998; Литвин, Коренберг, 1999; Коротков, 2005), что температурный режим неактивного для основных переносчиков периода и показатели континентальности климата — это важнейшие факторы продемонстрированной (Zanotto et al., 1995; Gould et al., 1997) клинальной изменчивости и эволюции вирусов группы КЭ.

Существование популяций основных переносчиков и очагов КЭ на урбанизированной территории — отнюдь не новая черта его эпизоотологии и эпидемиологии, возникшая в результате недавнего проникновения клещей в крупные города. В больших парковых комплексах внутри Праги, возникших на месте первоначальных фитоценозов еще в 40-х–90-х годах XIX века, издавна обитают все фазы развития *I. ricinus*, и следовательно клещи осуществляют здесь полный цикл развития (Даниэл, Черны, 1986). Очаги КЭ давно известны в городских лесопарках Перми, Новосибирского Академгородка, крупных городов Кемеровской области, Иркутска, Томска, Владивостока и др. (Кучерук и др., 1969; Кучерук, 1980; Сапегина и др., 1985). Клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus* были обнаружены на 58 участках лесопаркового пояса г. Санкт-Петербурга. На многих из них продолжительно существуют изолированные островные популяции этих переносчиков с высоким уровнем их численности (до 108 экз. на флаго-час) и зараженности вирусом (до 10%). В 1971–1986 гг. после посещения этих участков присасывание клещей отмечали от 121 до 910 горожан в год, причем 33 из них заболели КЭ (Вершинский и др., 1988). Более четверти века назад обобщены данные о влиянии урбанизации на клещей *I. persulcatus*

и *I. ricinus*, имевшиеся уже к тому времени; выяснено, что при благоприятных условиях популяции этих видов могут длительно существовать не только в кварталах новостройках, но и в исторически давно сложившихся частях городов (Korenberg et al., 1984). Таким образом, возможность существования популяций переносчиков клещевого энцефалита на урбанизированной территории определяется отнюдь не глобальным потеплением климата.

Существование природных очагов КЭ и возможность их эпидемического проявления в некоторых частях Австрии, Албании, Греции, Дании, Монголии, Норвегии, ФРГ, Финляндии, Франции, Швеции, Швейцарии, которое в последнее десятилетие некоторые зарубежные и российские исследователи рассматривают как расширение нозоареала (Lindgren et al., 2000; Burenhult et al., 2002; Krech, 2002; Hemmer et al., 2005; Lindgren and Jaenson, 2006; Skarpaas et al., 2006; Eisen, 2008; Süss et al., 2008, Fomsgaard et al., 2009; Holzmann et al., 2009), во многих случаях известно с 50-х–60-х годов прошлого века (Кучерук и др., 1969; Коренберг, Ковалевский, 1981). Такая трактовка — это скорее результат недостатка прежнего внимания к КЭ, его диагностике и системе регистрации заболеваний в некоторых из этих стран (Bröker, Gniel, 2003), или отсутствия предшествующего тщательного обследования описываемой территории, или поверхностного знакомства с литературой, чем результат распространения самих очагов. Исключение не составляет и изоляция вируса КЭ от клещей *I. persulcatus* из архипелага Коккола, который расположен в Финляндии всего в 300 км южнее Полярного круга. Природные очаги, как справедливо отмечают и сами авторы (Jääskeläinen et al., 2006), были известны здесь с 60-х годов. В принципе о появлении новых природных очагов можно говорить лишь в том случае, если территория обследовалась ранее и были получены репрезентативные данные, подтверждающие их прежнее отсутствие (Коренберг, 2004, 2008; Eisen, 2008; Korenberg, 2009; Kupa et al., 2010; Süss, 2011).

Представления о расширении нозоареала КЭ, происходящем в последние годы в России, лишены доказательной основы. Тезисные публикации о распространении КЭ в отдельных регионах, которые приводят в обзорных работах (Злобин, 2006 и др.), не содержат достоверных многолетних данных о прежнем отсутствии заболеваний среди жителей того или иного административного района. Смещение показателей высокой заболеваемости КЭ в более северные районы, которое наблюдается, например, в Кировской области в связи с прекращением или существенным сокращением деятельности крупных леспрохозов в ее наиболее эпидемически проявлявшихся в 60-е годы южных районах, отождествляют (или путают) со «смещением природных очагов» (Любезнова, Бондаренко, 2012, С. 51). Между тем внутри ареала КЭ примерно в третьей части районов РФ местные случаи КЭ обычно отмечают только в каком-то одном году из 10 произвольно выбранных лет (табл. 2.8). Поэтому, учитывая продолжительность полного цикла развития клещей (раздел 2.4.2) и периодические изменения их численности, ретроспективный сравнительный анализ нозоареала должен охватывать не менее 10–12 лет.

Некоторые исследователи даже приходят к заключению, что в течение последних 50–60 лет под влиянием климатических и других перечисленных выше факторов произошла «эволюция» свойств популяций вируса КЭ (Погодина, 2005, 2008), причем наблюдаются разные «типы эволюционных преобразований»: в некоторых Приуральских и Западносибирских регионах дальневосточный подтип (генотип) вируса якобы был «вытеснен» сибирским подтипом; в других регионах устойчиво циркулирует только сибирский подтип вируса, но накопились его мутантные формы; в третьих — дальневосточный и сибирский подтипы вируса сосуществуют, хотя в этом случае вообще неясно, в чем состоят популяционные преобразования; наконец, еще один тип «эволюционных преобразований» охарактеризован тем, что в очагах, где совместно циркулируют разные подтипы вируса, появляются его своеобразные варианты, геном которых содержит участки генов обоих подтипов, контролирующих белки E и NS1. Эти представления основаны на сравнении результатов генотипирования небольшого числа в значительной мере случайных изолятов и ампликонов РНК от клещей, полученных в разные годы и в разных очагах того или иного региона (Погодина и др., 2007). Однако судить об изменениях в генотипической структуре популяции вируса КЭ, а тем более о его эволюции (т.е. о векторизованных и необратимых изменениях) можно только на основании изучения большого числа изолятов (Hinz, 2003; раздел 2.2.2). В настоящее время сколько-нибудь репрезентативные данные о многолетней динамике генотипической структуры вирусной популяции в природных очагах по любому маркеру просто отсутствуют.

Столь же малоубедительны высказывания об увеличении в последние годы по сравнению с 1940–1970 гг. относительного числа лихорадочных и менингеальных форм КЭ, которое сопровождается снижением доли очаговых форм и летальности. Формальный анализ статистических данных из клинических стационаров действительно позволяет сделать такой вывод (Иерусалимский, 2001; Волкова, Образцова, 2002; Жукова и др., 2002). Однако соотношение числа различных клинических форм болезни существенно зависит от состояния лабораторной диагностики (Карпов и др., 1960). Ее сегодняшний уровень дает возможность чаще, чем раньше выявлять легкие формы КЭ, которые в прежние годы в значительной мере не диагностировались. В Предуралье, например, в середине 60-х годов прошлого века, когда основным методом серодиагностики, как и повсеместно, была РСК, а позднее РПГА, в клиническом спектре КЭ доминировала менингеальная форма (около 63 % от общего числа больных), а лихорадочная форма была примерно только у 17 % выявленных случаев (Шаповал и др., 1969). Сейчас, когда лабораторное подтверждение диагноза осуществляется значительно более чувствительными стандартизованными коммерческими тест-системами для выявления антител в ИФА, доля различных форм КЭ в их клиническом спектре, естественно, существенно изменилась: лихорадочных стало почти в 3,5 раза больше, а менингеальных — в 1,7 раза меньше (Фризен и др., 2004).

Итак, как уже было отмечено ранее (Коренберг, 2004, 2008; Korenberg, 2009), можно констатировать, что пока отсутствуют какие-либо достоверные факты,

подтверждающие влияние климатических перемен на распространение и уровень заболеваемости КЭ, на его переносчиков и основные компоненты паразитарных систем. К такому выводу, в конце концов, недавно вынуждены были прийти и авторы этой реанимированной гипотезы: анализ ситуации в северо-западной части ареала КЭ привел к заключению, что изменения климата были практически одинаковы во всем Балтийском регионе и не могут объяснить пространственно-временную неоднородность его эпидемиологии (Šumilo et al., 2007, 2008; Randolph, 2004, 2008; Василенко и др., 2008).

Выдающиеся климатологи, палеогеографы и ученые, занимающиеся биосферными процессами (М. И. Будыко, В. И. Вернадский, А. И. Воейков, К. К. Марков и др.) под глобальными понимали такие в целом векторизованные изменения климата, которые происходят на протяжении целых эпох и продолжаются минимум десятки тысяч лет. Поэтому то, что сейчас средства массовой информации, политики и некоторые научные работники называют глобальным изменением (потеплением) климата, просто не имеет научного смысла. Речь может идти о динамических так называемых вековых изменениях климата. Они неоднократно происходили на протяжении IX–XX столетий, и наблюдаются сейчас. Поэтому, оценивая с общебиологических позиций вероятность изменений экологического статуса и распространения того или иного вида под влиянием различных факторов, нельзя забывать о свойственной ему потенциальной норме (диапазоне) адаптивных возможностей, которые обеспечивают его длительное существование [по А. С. Северцову (2008) — эволюционный стазис] в изменяющихся условиях окружающей среды. В этой связи уместно привести слова, которыми завершил свою известную монографию Р. Риклефс (1979, С. 394): «Экологи удивительно невежественны во всем, что касается устойчивости природных систем. ... Не такто просто распознать устойчивость даже там, где она имеет место. ... Устойчивость представляет собой кульминационную точку всех экологических взаимозависимостей; это сумма всех компонентов и взаимодействий, составляющих сообщество, — синтез всех свойств низшего порядка, проявляющихся на уровне сообщества, популяции и организма. Чтобы понимать сущность устойчивости, мы должны понимать экологические и эволюционные реакции и взаимосвязи на всех уровнях».

Одной из особенностей современной эпидемиологии КЭ, оказывающей существенное влияние на уровень заболеваемости, считают формирование множества антропоургических очагов. Отчасти с этим можно согласиться, поскольку с середины 80-х до середины 90-х годов темпы этого процесса в целом временно действительно резко увеличились (см. далее). Однако давно известно, что при различных формах хозяйственной деятельности и на разных ее этапах он подчас имеет противоположно направленные векторы. Кроме того, воздействие сходных антропогенных факторов у северных и южных границ ареалов переносчиков и вируса может быть прямо противоположным (Коренберг, 1985). Этому были посвящены десятки конкретных и обзорных публикаций. Здесь можно напомнить лишь самые общие

закономерности влияния человека на природные очаги КЭ. Уже в первые годы изучения КЭ на Дальнем Востоке было выяснено, что при хозяйственном освоении лесной зоны со временем происходит естественное затухание природных очагов (Павловский, 1947). Но его начальный этап всегда приводит к увеличению мозаичности ландшафта, сопровождающейся увеличением интенсивности циркуляции возбудителей и активизации природных очагов, которые могут закрепиться вблизи населенных пунктов, особенно на пастбищах. Когда территория в основном освоена, начинается постепенное затухание природных очагов (Петрищева, 1964; Кучерук, 1980). Этот процесс подробно прослежен на примере воздействия рубки леса и последующего постепенного зарастания вырубок на природные очаги КЭ (Turicova, Korenberg, 1965). В ряде регионов он протекает и сегодня (Беспятова и др., 2008; Данчинова и др., 2008), что имеет весьма отдаленное отношение к глобальным изменениям климата. По классической схеме развивается ситуация вследствие воздействия антропогенных факторов на лесные биоценозы вокруг многих российских крупных городов, где с середины 80-х годов началось бурное освоение лесной или закустаренной территории под дачи и садово-огородные участки, а также в странах Центральной Европы и Балтии (Randolph, 2008). В пригородах Иркутска, например, численность взрослых *I. persulcatus* с 1986 по 2006 г. увеличилась более чем в 80 раз, но уже начало намечаться ее снижение (Никитин, Антонова, 2005; Коротков и др., 2007а), причем данные авторов показывают, что изменения климатических показателей в 1970–1985 гг. не объясняют стабильно низкую численность клещей в этот период.

Остается проследить, когда началось увеличение доли городских жителей среди заболевших и в какой мере их сегодняшнее преобладание можно считать особенностью эпидемиологии КЭ, которая проявилась в последние годы. Хотя уже в 1961 г. было отмечено, что в структуре заболеваемости КЭ «...повсеместно увеличился удельный вес городских жителей» (Иванова, 1961, 1969; раздел 2.5.4), в 1970 г. они составляли только 44 % от всех заболевших. Доля горожан особенно резко возросла с начала 70-х годов, и уже в 1978 г., задолго до «рекордного» всплеска заболеваемости она достигла 68 %, главным образом, за счет крупных городов с населением более 400 тыс. человек. В некоторые из 90-х годов этот показатель был немного выше (Коренберг, 2003; Злобин, 2004), но в 1999 г. (т.е. в год абсолютного максимума заболеваемости) он составлял 64,2 %, а в самом начале нового века — от 60 до 67 % (Онищенко, 2002). Его относительная неизменность на протяжении последних тридцати лет сама по себе не объясняет ни существенного повышения уровня заболеваемости, ни его последующего столь же существенного снижения.

Эти процессы вполне удовлетворительно описываются принципиальной моделью взаимообусловленности главных факторов, влияющих на интенсивность эпидемического проявления природных очагов (рис. 1.2). В конечном счете, она всегда есть результат, определяющийся двумя важнейшими показателями: лоймопотенциалом очагов и интенсивностью контакта населения с ними (Коренберг,

Юркова, 1983). Еще в конце 70-х – в 80-х годах среди населения в отношении КЭ наметилась новая группа риска: садоводы-любители. В г. Перми, например, в 1978–1988 гг. из 2071 заболевания 694 случая (33,5%) были связаны с пребыванием на садовых участках (Хлебутина и др., 1990). Контакт населения с клещами резко увеличился в течение нескольких последующих лет в связи с массовым освоением территорий, на которых существовали природные очаги КЭ, под дачные и садово-огородные участки. В Удмуртии, например, по официальным статистическим данным с 1984–1985 гг. по 1991–1992 гг. их количество выросло примерно в 2–2,2, а к 1995 г. — почти в 3 раза (рис. 2.19). Аналогичная ситуация была в этот период и в большинстве других субъектов РФ. Этот чисто социальный фактор через антропогенное влияние на мозаику ландшафтов на первом этапе способствовал росту численности клещей (возможно, и других компонентов паразитарной системы), а следовательно лоймопотенциала природных очагов (см. выше). Вполне предсказуемым эпидемическим результатом таких процессов стало увеличение заболеваемости КЭ (и некоторыми другими природноочаговыми инфекциями) до ее «рекордного» уровня в 1996 и 1999 гг. К середине 90-х годов интенсивность освоения пригородов перестала бурно нарастать. Под влиянием каких-то глобальных факторов сколько-нибудь заметного направленного увеличения лоймопотенциала природных очагов не произошло, а на уже обустроенных территориях очаги КЭ постепенно начали деградировать. Стало ясно, что рост

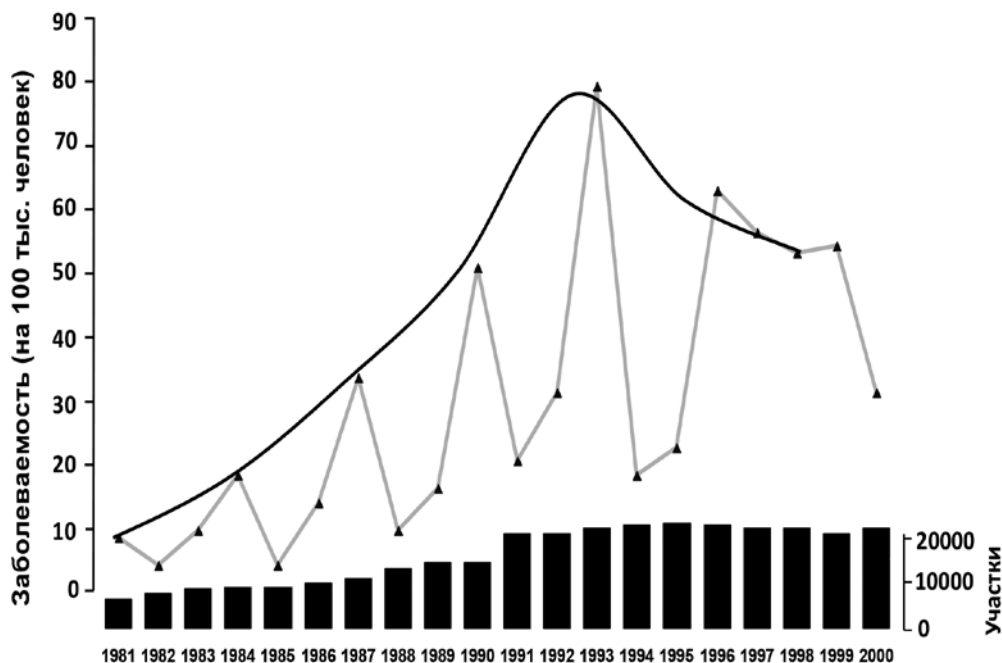


Рис. 2.19. Изменение заболеваемости клещевым энцефалитом и числа садовых участков в Удмуртии в 1981–2000 гг.

заболеваемости должен прекратиться, а ее показатели стабилизируются (с обычными колебаниями по годам) на уровне, который будет определяться существующей интенсивностью контакта населения с природными очагами. Последнее десятилетие подтвердило эту оценку эпидситуации.

Поэтому объяснение увеличения числа случаев КЭ в 90-е годы «коллапсом коммунизма» в странах Восточной Европы (Randolph, Rogers, 2000; Randolph, 2008) представляется «лововым», упрощенно-политизированным и слабо обоснованным эпидемиологически. Такие прецеденты бывали и в «глубоко коммунистические» времена. Вряд ли уместно, увязывать, например, колоссальные вспышки туляремии в Советском Союзе в 1938–1957 гг. (Олсуфьев, Дунаева, 1970) с его политической системой, крах которой произошел еще через 35 лет, или нарастание заболеваемости Лайм боррелиозом в США с политическим строем в этой стране. Следует, однако, признать, что социально-экономические перемены, несомненно, могут оказывать, и периодически оказывают, недооцениваемое мощное, и подчас «взрывное» воздействие на интенсивность контакта населения с возбудителями природноочаговых инфекций. Применительно к нарастанию заболеваемости КЭ это положение признали, наконец, и некоторые «пионеры» глобального потепления как основной ее причины (Randolph, 2008, 2008a, 2010). Именно социально-экономические условия создали предпосылки для подъема заболеваемости не только в 90-е, но и в середине 60-х годов прошлого века, а обусловленное ими резкое сокращение поголовья коз привело к тому, что ранее многочисленные алиментарные случаи КЭ довольно быстро стали редкостью (раздел 2.5.4).

Анализируя многолетние показатели КЭ в России, нельзя не обратить внимания на описанные выше довольно продолжительные периоды ее подъема и спада (рис. 2.16). Их причины, прежде всего, связывают «... с природными факторами, такими как колебания численности переносчиков и их теплокровных прокормителей, вирусофорности клещей, уровней иммунной прослойки у животных в природных очагах, а также, возможно, изменениями свойств циркулирующего вируса за счет распространения тех или иных его генетических вариантов» (Львов, Злобин, 2007, С. 27). Эти биологические факторы с большей или меньшей степенью детальности рассмотрены в соответствующих разделах этой книги. Здесь важно лишь отметить некоторую недооценку социальных причин. В этой связи вывод, который следует сделать из анализа причин повышения заболеваемости в 90-е годы и двух ее «рекордных» пиков, состоит, на наш взгляд, в том, что в дальнейшем существенный всплеск заболеваемости может произойти при новом резком увеличении контакта населения с природными очагами. Это может (должно) быть обусловлено дополнительным влиянием социально-экономических факторов, затрагивающих одновременно население значительной части лесной зоны (Коренберг, 2003). Первостепенное значение в этом плане (не только для КЭ, но и для всех природноочаговых инфекций), по всей видимости, будут иметь усиливающиеся процессы хозяйственного освоения и урбанизации территории. Они непременно будут происходить по мере улучшения экономики страны и ро-

ста благосостояния населения. При этом любые серьезные прогнозы изменения уровня заболеваемости в ближайшие годы не могут быть голословными «страшилками», как это иногда бывает (Карганова, 2011 и др.). Их научное обоснование должно опираться на базовые экологические закономерности существования паразитарных систем вируса КЭ эпидемиологии этой инфекции.

2.6. Клинические проявления

Внедрение нейротропного вируса и его взаимодействие с организмом человека определяют патогенез заболевания. Возбудитель проникает чаще со слюной инфицированного клеща, укусившего человека, или через эпителий кишечника (при алиментарном заражении) и затем по капиллярам — в кровяное русло, что приводит к кратковременной так называемой резорбтивной вирусемии. Из крови вирус попадает в мозг, размножается и вновь появляется в крови. Эта повторная и более интенсивная вирусемия продолжается практически в течение всего лихорадочного периода болезни. Проникновение вируса в мозг и его активное размножение — важнейшие звенья патогенеза заболевания. Вследствие диссеминации вируса развивается воспалительно-дегенеративный процесс, в который могут постепенно вовлекаться все отделы нервной системы. Об этом свидетельствует плеоцитоз, а иногда и повышение белка в спинномозговой жидкости. Нарушение регуляторной функции центральной нервной системы — это один из важнейших факторов развития болезни, определяющих ее клинические проявления, течение и исход (Зильбер, 1945; Галант, 1948; Панов, 1956; Бельман, 1960; Шаповал, 1961, 1976, 1980; Верета, Кантер, 1963; Вотяков и др., 1978; Иерусалимский, 2001; Жукова и др., 2002). Из четырех факторов, которые, по мнению П. Натталл и М. Лабуды (Nuttall and Labuda, 2005) могут оказывать влияние на клиническую картину заболевания, наиболее вероятными представляются два: концентрация в клеще вируса, вызывающего инфекцию (см. раздел 2.4.4), и вирулентности инфицирующего штамма (по выражению цитируемых авторов), а точнее, той совокупности вирионов, которая попала в организм человека.

Инкубационный период длится от 1 до 30 дней, в редких случаях до 40 и более дней; в среднем 7–14 дней. У ряда больных началу заболевания предшествует продромальный период длительностью 1–2 дня, проявляющийся недомоганием, ощущениями слабости, разбитости; иногда отмечают легкие боли в области мышц шеи и плечевого пояса, в поясничной области, а также ломота, чувство онемения, головная боль. При алиментарном инфицировании скрытый период обычно бывает более коротким, чем при трансмиссивном.

Для «классического» клинического течения болезни характерно острое, нередко внезапное начало (зачастую больной может назвать час начала болезни), сопровождающееся ознобом, сильной головной болью, резким подъемом температуры до 38–39,5° С, тошнотой, рвотой, общей гиперестезией, мышечными

болями чаще в области шеи, надплечий, поясницы и в конечностях. Далее могут развиваться различные синдромы серозного менингита (головная боль, рвота, оглушенность, сопорозное состояние, судороги, ригидность затылочных мышц, симптомы Брудзинского и Кернига) и полиэнцефаломиелита (вялые параличи шеи и верхних конечностей, бульбарные расстройства и гемипаретические явления). Характерны гиперемия покровов и слизистой оболочки, инъецированные склеры и конъюнктивы. Иногда КЭ начинается с внезапной потери сознания, бреда, психомоторного возбуждения, снижения артериального давления или судорожного приступа (эпилептического припадка). В гемограмме: умеренный лейкоцитоз, сдвиг формулы влево, лимфоцитопения, анэозинофилия, увеличение СОЭ. В первые дни болезни часто отмечается ускоренная РОЭ, лейкопения, нормопения или небольшой лейкоцитоз (Шаповал и др., 1969; Коренберг и др., 2007).

Существует несколько клинических классификаций КЭ с разной степенью детальности выделяемых клинических форм. Наиболее рациональной из них представляется та, которую рекомендовал один из пионеров изучения этой нейровирусной инфекции и опытейший невролог А. Н. Шаповал, благодаря которому она отражена в ряде официальных инструктивно-методических документов. По характеру клинических проявлений было предложено различать 3 основные клинические формы: лихорадочную, менингеальную и очаговую.

Лихорадочная форма наиболее благоприятна по течению и прогнозу; ее ведущий признак — лихорадка без менингита и органной патологии. Лихорадочный период длится от нескольких часов до нескольких суток (в среднем 3–5 дней). Иногда отмечается двухволновая лихорадка. Начало острое, без продромального периода. Затем возникает внезапный подъем температуры до 38–39 °С, который сопровождается слабостью, головной болью, тошнотой. Изредка наблюдаются явления менингизма. В ликворе изменения не выявляются.

Для менингеальной формы характерно развитие общеинфекционного синдрома и картины серозного менингита, чаще сопровождающегося изменениями в ликворе (плеоцитоз, преимущественно лимфоцитарного характера), которые имеют важное диагностическое значение. Начальные проявления почти ничем не отличаются от симптомов лихорадочной формы, однако признаки общей интоксикации более выражены. Определяются ригидность мышц затылка, симптомы Кернига и Брудзинского. Степень выраженности менингеальных симптомов коррелирует с тяжестью состояния и температурной реакцией. На дальнем Востоке эта форма КЭ часто протекает с энцефалитическими симптомами (Вотяков и др., 2002). В целом клинической картине заболевания нередко свойственно двухволновое течение. Первая волна обычно немного короче второй. Более чем в 90 % случаев она продолжается от 2 до 8 дней, чаще 3–7 дней; вторая волна примерно у такого же числа больных длится от 2 до 10, чаще 5–9 дней. Интервал между волнами может составлять от 1 до 27 дней, но у 82 % больных — от 2 до 13 дней. Ликвор прозрачный, давление его повышено; выявляется умеренный лимфоцитарный плеоцитоз. В первые дни болезни иногда преобладают нейтрофилы,

которые часто полностью исчезают к концу первой недели. При развитии второй волны менингеальные явления, а также изменения в спинномозговой жидкости (увеличение числа клеток при нормальном или слегка повышенном количестве белка) более выражены. При более тяжелом течении болезни нейтрофильный плеоцитоз наблюдается чаще (Шаповал и др., 1969). Изменения в ликворе держатся сравнительно долго (от 2–3 недель до нескольких месяцев) и не всегда сопровождаются менингеальной симптоматикой. Исход благоприятный.

Очаговая форма представляет собой энцефаломиелит, в рамках которого различают менингоэнцефалитическую, полиомиелитическую и полирадикулоневритическую формы. Отличается различными симптомами очагового поражения нервной системы, в частности ядер продолговатого мозга, обуславливающими тяжелое течение болезни, нередко заканчивающейся летально или стойкими, обычно пожизненными параличами. При развитии парезов летальность составляет более 55% (Вотяков и др., 2002).

Менингоэнцефалитическая форма отличается более тяжелым течением. Нередко возникают бред, галлюцинации, психомоторное возбуждение с утратой ориентировки в месте и времени. Иногда развиваются эпилептические припадки. Различают диффузный и очаговый менингоэнцефалит. При диффузном процессе выражены общемозговые нарушения (глубокие расстройства сознания, эпилептические припадки) и псевдобульбарные расстройства в виде нарушений дыхания (бради- или тахипноэ, по типу Чейн-Стокса), сердечно-сосудистой системы. Наблюдается неравномерность глубоких рефлексов, асимметричных патологических рефлексов, центральных парезов мимической мускулатуры и мышц языка как результат развития рассеянных очагов органического поражения мозга. При очаговом менингоэнцефалите быстро возникают гемипарезы, парезы после джексоновских судорог, центральные монопарезы, миоклонии, эпилептические припадки, реже — подкорковые и мозжечковые синдромы. В редких случаях (как следствие нарушения вегетативных центров) наблюдается синдром желудочного кровотечения с кровавой рвотой. Характерны очаговые поражения черепных нервов III, IV, V, VI пар, несколько чаще VII, IX, X, XI и XII пар. Позднее может развиваться кожевниковская эпилепсия, когда на фоне постоянного гиперкинеза появляются общеэпилептические припадки с потерей сознания. Летальный исход при менингоэнцефалитической форме КЭ наступает в 25–30% случаев.

Полиомиелитическая форма характеризуется продромальным периодом (1–2 дня), в течение которого отмечаются общая слабость и повышенная утомляемость. Затем выявляются периодически возникающие подергивания мышц фибриллярного или фасцикулярного характера, отражающие раздражение клеток передних рогов продолговатого и спинного мозга. Резко выражен болевой синдром. Наиболее характерная локализация болей — в области мышц шеи, надплечий и рук. Внезапно может появиться слабость в какой-либо конечности или чувство онемения в ней. В последующем на фоне фебрильной лихорадки (1–4-й день первой лихорадочной волны или 1–3-й день второй лихорадочной волны) и об-

щезомозговых симптомов развиваются вялые парезы шейно-плечевой (шейно-грудной) локализации, которые нарастают в течение нескольких дней, а иногда 2 недели. Наблюдаются симптомы, описанные А. Г. Пановым (1956): «свисающая на грудь голова» (рис. 2.20.), «горделивая осанка», «согбенная сутуловатая поза». Полиомиелитические нарушения могут сочетаться с проводниковыми, обычно пирамидными: вялые парезы рук и спастические — ног, комбинации амиотрофий и гиперфлексии. Нарастание двигательных нарушений продолжается до 7–12 дней. В конце 2–3-й недели болезни развивается атрофия пораженных мышц.

Полирадикулоневритическая форма характеризуется поражением периферических нервов и корешков. У больных появляются боли по ходу нервных стволов, парестезии (чувство «ползания мурашек»). Расстройства чувствительности в дистальных отделах конечностей по полиневральному типу. Определяются симптомы Лассега и Вассермана.

Выделяют также инаппаратную и стертую формы клещевого энцефалита. Последняя протекает с кратким лихорадочным периодом (1–3 дня) при невыраженности (стертости) клинических черт (Шаповал, 1980). В целом клинически манифестирующиеся случаи составляют по разным оценкам всего от 30 до 5 % заражений (Шаповал, 1976, 1977; Погодина и др., 1986; Gritsun et al., 2003; Лашкевич и Карганова, 2007) или даже меньше. По мнению Д. К. Львова и В. И. Покровского (1983) соотношение между клинически выраженными и инаппаратными формами составляет 1:60. Даже на Дальнем Востоке инфицирование людей, как показывает выделение вируса КЭ из крови и данные об антигенемии у людей, «укушенных» клещами, индекс довольно низок, а доминируют скрытые проявления манифестации инфекционного процесса, что обусловлено гетерогенностью вирусной популяции (Леонова, 1996, 1996а), поскольку только три определенные мутации вируса могут влиять на тяжесть течения инфекционного процесса (Беликов и др., 2010).



Рис. 2.20. Больная КЭ: а — синдром «свислой головы»; б — атрофия мышц плечевого пояса и проксимальных отделов верхних конечностей (из Панов, 1956).

У 1–3 % больных отмечается непрерывное или прерывистое прогрессирующее течение и хронические формы клещевого энцефалита (Шаповал, 1976; Погодина и др., 1986; Надеждина, 2001; Roronnikova, 2006). Хотя, главным образом по результатам опытов на обезьянах, А. А. Смородинцев и А. В. Дубов (1986, С. 150) считали, что «у людей, переболевших клещевым энцефалитом, длительная задержка вируса в организме наблюдается сравнительно редко», характер прогрессирующего течения по всей видимости связан с особенностями персистенции вируса в организме



Рис. 2.21. Стойкие очаговые поражения нервной системы у детей в результате КЭ. Кемерово. 2005 г. (фото Э.И. Коренберга).

пациента. После острого периода она может продолжаться пожизненно (Погодина, 1996; срок наблюдений — около 55 лет). Возможность хронизации инфекционного процесса при КЭ была выявлена еще в 40-е годы; варианты прогрессивного течения и его продолжительность, которая по данным разных авторов может составлять от 6 месяцев до 20 лет, описаны А. П. Иерусалимским (2001). В Белоруссии за все время наблюдений прогрессивные формы не зарегистрированы (Вотьяков и др., 2002).

Для различных регионов обширного нозоареала КЭ характерна определенная среднелетняя частота встречаемости различных клинических форм заболевания (Шаповал и др., 1969). Чем больше очаговых форм в региональном клиническом спектре, тем больше летальность (от 1–2% до 27–30%). Давно было отмечено, что «районы с малым количеством стертых форм и относительно высокой летальностью расположены в двух не связанных между собой регионах: на Дальнем Востоке и на северо-западе Русской равнины» (Кучерук и др., 1969, С. 199). В те годы на Дальнем Востоке летальность при КЭ составляла от 17 до 26%, а в Восточной Сибири — 4–7%, причем больные со стертой формой составляли в этих регионах 10 и менее процентов. Западнее, начиная с Иркутской области и Красноярского края, летальным исходом заканчивались около 1% случаев; в Алтайском крае и Тюменской области их было около 2–3%, а на Урале, в Предуралье и в среднем течении Волги — менее 1%. В ряде северо-западных областей Восточно-Европейской равнины летальность возрастала до 5–12,5%, а стертые формы не регистрировались или их было не более 5%. Еще западнее летальность снова снижалась до 1%, а число стертых форм резко возрастало до 12–17%. Учитывая несовершенство лабораторной диагностики КЭ в те годы (раздел 2.5.4), вполне вероятно, что приведенные цифры не очень точны, но определенные региональные различия в клинических проявлениях КЭ они отражают. Так, через 30 лет было констатировано, что для Приангарья характерно преобладание менингеальных (более 47%) и лихорадочных (более 39%) форм при их среднетяжелом течении (примерно 75% случаев) и низкой летальности (около 2,5%). По мнению авторов (Борисов и др., 2000) эти показатели приближают КЭ в Восточной Сибири к клиническому спектру заболеваний в Ленинградской области, но отличают от дальневосточных регионов. В последних тяжелые очаговые

формы, по их утверждению, а также по В. И. Вотякову и др. (2002), даже преобладают, хотя по данным Г. Н. Леоновой (2010) в Приморском крае большая часть случаев КЭ (до 65 %) — это стертые и лихорадочные формы. В европейских странах за пределами России КЭ в целом протекает гораздо «мягче» в виде легких и среднетяжелых лихорадочных и менингеальных форм, которые примерно в третьей части случаев имеют двухволновое течение (Gritsun et al., 2003; Haglund, Günter, 2003; Mansfield et al., 2009; Nuttall, 2011). В. В. Кучерук с соавторами (1969, С. 201) предположительно объясняли географические различия в клинических проявлениях инфекции наличием «четырех типов вируса клещевого энцефалита», а В. А. Борисов с соавторами (2000) — циркуляцией различных генотипов вируса, что не подтверждают современные данные о его внутривидовой таксономии (раздел 2.2.2). По всей видимости, эти отличия связаны с разницей в продолжительности цикла развития основной части популяций переносчика в разных регионах (раздел 2.4.2), что сказывается на скорости пассирования вируса при его циркуляции в природных очагах.

У детей (рис. 2.21) более тяжелое течение КЭ и очаговые поражения нервной системы в целом наблюдаются чаще (Шаповал, Угрюмова, 1941; Визен, Чебкасова, 1961; Ермакова, Козакова, 1964; Шаповал и др., 1969; Воронкова и др., 2004), однако как и у взрослых прослеживаются региональные отличия в тяжести и клиническом течении заболеваний. В Кемеровской области, например, лихорадочная форма КЭ протекает у детей тяжело с частыми энцефалитическими реакциями. Инфекционный процесс довольно часто приводит к острому менингоэнцефалиту с судорожно-коматозным течением, отеком головного мозга и нарушением жизненных функций в остром периоде, а также к острому менингоэнцефалополиомиелиту, после которых развивается кожевниковская эпилепсия, представляющая собой характерный клинический симптомокомплекс последующей хронизации заболевания (Роронникова, 2008; Попонникова и др., 2011). В Пермском крае дети болеют преимущественно среднетяжелой лихорадочной (около 58 % случаев) и менингеальной (более 39 %) формой КЭ, которая у трети больных протекает с двухволновым течением; очаговая форма (немногим более 2 %) встречается гораздо реже (Мерзлова, Самаров, 2012). В центральной Европе КЭ у детей протекает еще «мягче», а хронизация заболевания практически вообще не отмечена (Loger et al., 2000; Kaiser, 2002; Lesnicar et al., 2003; Rostasy, 2012). Отмечена различная направленность нарушений баланса цитокинов в зависимости от клинической формы болезни. При наиболее тяжелом течении заболевания с очаговыми поражениями нервной системы наблюдается повышенное содержание интерлейкина-6 и интерферона-α в крови (Попонникова и др., 2007).

2.7. Иммуитет

Особенности развития гуморального и клеточного иммунитета при КЭ у экспериментальных животных и человека довольно подробно изложены в несколь-

ких монографиях, методических рекомендациях и пособиях (Карпов, Федоров, 1969; Смородинцев, Дубов, 1986; Левкович и др., 1987; Иерусалимский, 2001; Кветкова, 2004). Поэтому в данном разделе будут рассмотрены лишь те аспекты гуморального иммунитета, которые, как нам представляется, имеют самое непосредственное отношение к формированию постинфекционной защиты человека от возможного последующего проникновения вируса в его организм, а также к влиянию этого процесса на популяционный иммунитет (показатели так называемой иммунной прослойки) и на интенсивность эпидемического проявления природных очагов (т.е. на уровень заболеваемости).

Вируснейтрализующая и антигемагглютинирующая активность к вирусу КЭ сывороток крови пациентов связана с присутствием в них иммуноглобулинов М и G, а комплементсвязывающая — с IgG. Антигемагглютинины класса М появляются на 3–4-й день после начала инфекционного процесса, а их наибольшая концентрация наблюдается с 3-го по 14-й день. (Гайдамович и др., 1967, цит. по Смородинцев, Дубов, 1986). По отношению непосредственно к вирусу КЭ они сравнительно мало специфичны, поскольку возникают в ответ на контакт макроорганизма с другими арбовирусами, причем при повторном контакте с любым из них повышается титр антител ко всем вирусам этого комплекса (Гайдамович, 1972). Хотя Э. А. Кветкова и др. (1978) считают, что эти антитела сохраняются у переболевших до 1–3 лет, их наличие вполне может быть связано с повторными контактами в этот период с одним или несколькими разными арбовирусами. Вируснейтрализующие антитела появляются в крови заболевших одновременно с антигемагглютинами, и до 14-го дня их нейтрализующая активность связана с глобулинами класса М, а затем — класса G. К 20–30-му дню они присутствуют примерно у половины, а к 40-му — у всех больных. Эти антитела были обнаружены через 10–12 (Соловьев, 1943, 1944) и даже через 20–25 лет (Чумаков, Зейтленок, 1939) после переболевания. Вероятно, именно такие факты дали основание полагать, что вируснейтрализующие антитела длительно, возможно пожизненно, сохраняются у реконвалесцентов (Левкович и др., 1967), и поэтому, как убеждены многие, повторных заболеваний КЭ не может быть. Однако постепенно накопилось некоторое число таких случаев, которые проанализировал А. П. Иерусалимский (2001). Некоторые из них оказались недостаточно четко охарактеризованы. Но достоверные описания повторных заболеваний как после трансмиссивного, так и алиментарного заражений (Ольшевская, 1939; Лопатин и др., 1962; Попов, 1965; Шаповал, 1980; Иерусалимский, 2001), заставляют подвергнуть определенной переоценке представления о длительности, и в особенности о стойкости иммунитета у переболевших. Очевидно, титры протективных антител у них обычно тоже постепенно снижаются.

На заре изучения КЭ широкое распространение получили представления о латентной иммунизации или так называемом проэпидемичивании местного населения, в результате которого оно значительно реже болеет КЭ, чем приезжие (Смородинцев, 1939; Шаповал и др., 1939). Некоторые исследователи считали, что

в течение 3 лет происходит почти полная естественная иммунизация населения (Данковский, 1939). Эти представления до сих пор тиражируются в некоторых статьях, монографиях и учебниках. Однако оказалось, что к моменту заболевания сельских жителей 65–70 % из них составляют лица, проживавшие в данном населенном пункте не менее 7–10 лет (Kucheruk, 1973; раздел 2.5.3).

Показано, что антитела в крови местных жителей, появляющиеся вследствие частых укусов клещей, и постепенная латентная иммунизация населения небольшими дозами вируса, названная проэпидемичиванием, не гарантируют защиту от заболевания. Приобретенные при этом титры антител заметно снижаются уже через несколько месяцев. Гуморальный иммунитет поддерживается на определенном уровне лишь при регулярных повторных контактах с антигеном. Но этот уровень часто не обеспечивает резистентность к заражающим дозам вируса, по меньшей мере далеко не всегда препятствует вирусемии и клинически выраженному заболеванию. Подавляющее большинство заражений вирусом приводит к инаппарантному течению инфекции с развитием иммунитета, причем высокий уровень вируснейтрализующих антител не препятствует выделению вируса из крови (Левкович и др., 1967; раздел 2.6). Наличие антител (включая вируснейтрализующие) к вирусу КЭ в крови человека — это чаще всего лишь показатель частоты его контакта с возбудителем. Количественные (доля лиц с антителами) и качественные (среднегеометрический показатель интенсивности) показатели группового иммунитета представляют собой результат постоянного динамического процесса, в ходе которого у одних людей антитела появляются впервые, у других — их титр снижается или нарастает, у третьих — временно стабилизируется. Относительные показатели группового иммунитета среди населения по существу свидетельствуют не столько о степени его резистентности или защищенности (проэпидемичности), сколько о лоймопотенциале природного очага и риске заражения людей. В целом подавляющее большинство заражений вирусом приводит к инаппарантному течению инфекции с развитием иммунитета (раздел 2.6).

Итак, значение гуморального иммунитета в эпидемиологии и эпизоотологии (раздел 2.4.1 и 2.5.2) КЭ явно переоценивается. Это положение было аргументированно высказано довольно давно (Korenberg, 1976) и неоднократно изложено в монографиях и руководствах по инфекционным болезням (Коренберг, 1993, 2002, 2003), что позволяет полностью присоединиться к четким формулировкам А. П. Иерусалимского (2001, С. 248 и 249): «...показатели гуморального иммунитета (титр вируснейтрализующих и антигемагглютинирующих антител в крови) не является абсолютным показателем иммунитета при КЭ», поскольку:

- «— возможна вирусемия при высоких показателях гуморального иммунитета;
- возможна заболеваемость людей, имеющих достаточно высокий гуморальный иммунитет вследствие естественной иммунизации;
- возможна заболеваемость людей вакцинированных и ревакцинированных против КЭ и обладающих хорошей иммунологической реактивностью (по показателям гуморального поствакцинального иммунитета);

— возможна повторная заболеваемость людей, перенесших клинически выраженные формы КЭ и обладающих постинфекционным иммунитетом, причем повторная заболеваемость возможна как при трансмиссивном, так и при алиментарном путях заражения».

Изложенное имеет самое непосредственное отношение к переосмыслению стратегии профилактики КЭ (раздел 8.2.1).

Многолетние сравнительные серолого-эпидемиологические данные позволяют предполагать, что под влиянием неблагоприятных для человека экологических факторов происходят изменения восприимчивости населения к вирусу КЭ. Это отражается на интенсивности эпидемического проявления очагов и на клиническом спектре заболеваний (Караванов и др., 1988).

2.8. Лечение

Специфическая терапия КЭ отсутствует, и по существу проводится симптоматическое лечение, призванное облегчить состояние больного, а также используются противовирусные препараты общего действия и иммунопрепараты. Единая общепризнанная схема лечения отсутствует. Среди неврологов и инфекционистов нет единого мнения по поводу целесообразности применения в лечебных целях специфического иммуноглобулина человека против КЭ, хотя этот способ лечения был не только апробирован и рекомендован (Верета, 1973; Верета и др., 1976, 1982; Воронкова и др., 2005), но и запатентован еще в 1993 г. (патент № 1837230). В европейских странах в настоящее время этот препарат вообще не производится.

Терапию назначают независимо от проводимых ранее профилактических прививок или применения с профилактической целью специфического иммуноглобулина. По мнению Н. Н. Воробьевой, В. И. Фризена и др. пермских инфекционистов (см. Коренберг и др., 2007) с некоторыми отличиями при разных клинических формах заболевания она должна состоять в следующем: постельный режим (при менингеальной и очаговой формах — строгий); соответствующая диета (№ 13, при очаговых поражениях по показаниям зондовое или парентеральное питание); иммуноглобулин человека против КЭ (при лихорадочной форме — в разовой дозе 0,1 мл/кг массы тела в/мышечно 1 раз в день в течение 5 дней, при менингеальной — в той же разовой дозе с интервалом 10–12 часов в течение не менее 5 дней, при очаговой — в той же дозе с интервалом 8–12 часов не менее 5–6 дней, а при крайне тяжелом течении — 0,15 мл/кг массы тела); дезинтоксикационная терапия (внутрь глюколан, цитроглюкосолан, в более тяжелых случаях — в/венно, капельно глюкозо-солевые и коллоидные растворы в соотношении 3:1 в/венно 20 кап./мин); витамин С, рутин, поливитаминные препараты. Кроме того: *при лихорадочной форме* — десенсибилизирующие препараты — диазолин, тавегил, лоратадин (klarитин) и симптоматическая терапия; *при менингеальной* — в/венно со скоростью 30–40 кап./мин противознцевалитный иммуногло-

булин по 25–50 мл 1–2 введения через 1–2 дня, индукторы интерферона (ларифан 1 мл в/мышечно 3–5 раз через 72 часа, амиксин 0,15–0,3 г внутрь 5–10 раз через 48 часов); в тяжелых случаях — кортикостероидная терапия (преднизолон 1–2 мг/кг внутрь или в/венно); *при менингеальной и очаговой* — иммунная плазма в/венно, капельно в 1-й день 150 мл, 2–3-й дни — 100 мл, рибонуклеаза — 30 мг 6 раз в день в/мышечно в течение 5–7 дней, дегидратационная терапия — осмодиуретики, салуретики (маннитол, лазикс), дезагреганты (трентал в/венно, капельно по 200 мг в 200 мл 5%-го раствора глюкозы в течение 7 дней), оксигенотерапия; ноотропы (ноотропил, пирацетам в/венно капельно). *При очаговой форме* к перечисленному добавляются кортикостероиды (преднизолон 1,5–2 мг/кг внутрь, при бульбарных расстройствах 6–8 мг/кг в/венно), противосудорожные средства (седуксен, ГОМК), десенсибилизирующие средства (тавегил, супрастин, лоратадин), ноотропы (ноотропил, пирацетам в/венно капельно), прозерин (0,05–1,0 % п/кожно, 12–14 дней), дибазол (0,005 г 2 раза в день, 12–14 дней). При наличии бульбарных расстройств лечение проводится в отделениях реанимации и неврологических стационарах.

По мнению Т. В. Попонниковой и др. (2007) применение иммуномодуляторов наряду с противовирусными препаратами может способствовать элиминации вируса из организма и снизить риск поражения центральной нервной системы. Н. П. Толоконская и др. (2007) рекомендуют для лечения КЭ ряд антигемотоксических препаратов. В европейских странах, где в большинстве случаев КЭ протекает сравнительно легко, ограничиваются нестероидными противовоспалительными препаратами: парацетомол, аспирин и др. (Mansfield et al., 2009).

Независимо от клинической формы и тяжести заболевания все перенесшие КЭ должны находиться под диспансерным наблюдением от 1 до 3 лет. При этом особое внимание обращают на возможность прогрессивного течения и хронизации заболевания. Периодичность наблюдения в течение диспансерного периода, дополнительные исследования, лечебные и реабилитационные мероприятия назначают согласно клиническим показаниям.

2.9. Литература

- Аитов К. А., Тарбеев А. К., Борисов В. А. и др. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 33.
- Александров Ю. В. и Ягодинский В. Н. // ЖГЭМИ. 1966. Т. 10, № 1. С. 107.
- Алексеев А. Н. // Мед. паразитол. 1990. № 5. С. 37.
- Алексеев А. Н. // Экологическая паразитология. 1991. Вып. 1. С. 51.
- Алексеев А. Н. // Система клещ — возбудитель и ее эмерджентные свойства. С.-Петербург, 1993. 202 с.
- Алексеев А. Н. // ДАН СССР. 1994. Т. 338. С. 259.
- Алексеев А. Н. // Изменение климата и здоровье населения России в XXI веке. 2004. Адамант. М., С. 67.
- Алексеев А. Н. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 21.
- Алексеев А. Н., Буренкова Л. А., Чунихин С. П. // Мед. паразитол. 1988. № 2. С. 71.
- Алексеев А. Н., Дубинина, Юшкова О. В. Функционирование паразитарной системы в условиях усиливающегося антропогенного пресса. СПб., 2008. 146 с.
- Алексеев А. Н., Кондрашова З. Н. Организм членистоногих как среда обитания возбудителей. Свердловск, 1985. 181 с.
- Алексеев А. Н., Лобзин Ю. В. Клещевые инфекции и их переносчики: современные проблемы паразитологии и эпидемиологии (Лекция). СПб., 2005.
- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. // Мед. паразитол. 1990. № 2. С. 48.
- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. // Паразитология. 1990а. Т. 24, № 3. С. 1177.
- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. // Мед. паразитол. 1991. № 2. С. 50.
- Алексеев А. Н., Чунихин С. П. // Паразитология. 1992. Т. 26, № 6. С. 506.
- Арумова Е. А. // Мед. паразитол. 1981. № 1. С. 49.
- Арумова Е. А. и Рубина М. А. // Мед. паразитол. 1974. Т. 43, № 2 С. 179.
- Ации Д. Сельскохозяйственная экология. ИЛ. М., 1959. 479 с.
- Бабенко Л. В. // Мед. паразитол. 1962. Т. 27, № 6. С. 639.
- Бабенко Л. В. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 213.
- Бабенко Л. В. // Там же. 1985а. С. 258.
- Бабенко Л. В., Никифоров Л. П., Фастовская Э. И. // Мед. паразитол. 1962. Т. 31, № 5. С. 584.
- Бабенко Л. В., Репкина Л. В. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 218.
- Бабенко Л. В., Рубина М. А. // Вопросы эпидемиологии клещевого энцефалита и биологические закономерности в его природном очаге. Медицина. М., 1968. С. 138.
- Балашиов Ю. С. // Зоол. журн. 1961. Т. 40, № 9. С. 1354.
- Балашиов Ю. С. // Мед. паразитол. 1962. Т. 31, № 1. С. 47.
- Балашиов Ю. С. Кровососущие клещи (*Ixodoidea*) — переносчики болезней человека и животных. Наука. Л., 1967. 319 с.
- Балашиов Ю. С. / Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. Наука. СПб., 1998. 287 с.
- Балашиов Ю. С. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. Наука. СПб., 2009. 357 с.
- Балашиов Ю. С. // Зоол. журн. 2010. Т. 89, № 1. С. 18.
- Балашиов Ю. С. // Паразитология. 2012. Т. 46, № 2. С. 81.

- Баннова Г. Г., Бычкова М. В., Пиванова Г. П. и др. // *Вопр. вирусол.* 1991. № 2. С. 164.
- Баннова Г. Г., Семашко И. В., Караванов А. С. и др. // *Мед. паразитол.* 1984. № 1. С. 34.
- Бахвалова В. Н., Морозова О. В., Добротворский А. К. и др. // *Паразитология.* 2001. Т. 35, № 5. С. 376.
- Бахвалова В. Н., Морозова О. В., Матвеева В. А. и др. // *Паразитология.* 2003. Т. 37, № 1. С. 18.
- Бахвалова В. Н., Панов В. В., Чичерина Г. С., Морозова О. В. // *Национальные приоритеты России.* 2011. № 2 (5). С. 60.
- Беклемшиев В. Н. // *Мед. паразитол.* 1945. Т. 14, № 1. С. 3.
- Беклемшиев В. Н. // *Мед. паразитол.* 1948. Т. 17, № 5. С. 385.
- Беклемшиев В. Н. // *Мед. паразитол.* 1954. Т. 23, № 1. С. 3.
- Беклемшиев В. Н. // *Зоол. журн.* 1956. Т. 35, вып. 12. С. 1765.
- Беклемшиев В. Н. // *Мед. паразитол.* 1959. Т. 28. № 3. С. 310.
- Беликов С. И., Леонова Г. Н., Джиоев Ю. П., Злобин В. И. // *Тихоокеанский мед. журн.*, 2001. № 2. С. 43.
- Беликов С. И., Леонова Г. Н., Кондратов И. Г. и др. // *Генетика.* 2010. Т. 46, № 3. С. 356.
- Белозеров В. Н. // *Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae).* Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 214.
- Бельман Х. Л. Клещевой энцефалит. Л., 1960. 200 с.
- Беляков В. Д., Яфаев Р. Х. Эпидемиология. Медицина. М., 1989. 416 с.
- Бериков В. Б., Лбов Г. С., Полякова Г. Л. и др. // *Эпидемиол. и вакцинопроф.* 2011. № 6. С. 25.
- Беспятова Л. А., Бугмырин, С. В., Коротков. Ю. С., Иешко, Е. П. // *Паразитология в XXI веке — проблемы, методы, решения.* Т. 1. «Лема». СПб., 2008. С. 74.
- Бируля Н. Б. и Залуцкая Л. И. // *Мед. паразитол.* 1965. Т. 35, № 3. С. 265.
- Блашковиц Д. // *Круговорот вирусов.* Academia. Прага. 1966. 142 с.
- Болотин Е. И. // *Паразитология.* 1999. Т. 33, вып. 5. С. 369.
- Борисов В. А., Ющук Н. Д., Малов И. В., Аитов К. А. // *Эпидемиол. и инфекц. бол.* 2000. № 6. С. 23.
- Болотин Е. И., Горковенко Л. Е. // *Паразитология.* 1998. Т. 32, вып. 1. С. 32
- Бурлаков С. А., Паутов Е. Н. // *Комары и клещи — переносчики вирусных и риккетсиозных заболеваний человека.* Медицина. М., 1975. 215 с.
- Василенко В. А., Головлева И. В., Шумило Д., Рэндолф С. Э. *Паразитология в XXI веке — проблемы, методы, решения.* Т. 1. «Лема». СПб., 2008. С. 119.
- Васильева И. С. и Никифоров Л. П. // *Вопросы эпидемиологии клещевого энцефалита и биологические закономерности в его природном очаге.* Медицина. М. 1968., С. 168.
- Верета Л. А. // *Принципы прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом.* Медицина., М. 1975. 135 с.
- Верета Л. А. // *Вопр. вирусологии.* 1983. № 6. С. 706.
- Верета Л. А., Воробьева М. С. // *Природная гетерогенность и целенаправленный отбор штаммов вируса клещевого энцефалита.* Медицина. М., 1990. 124 с.
- Верета Л. А., Кантер В. М. // *Клещевой энцефалит в Хабаровском крае.* Хабаровск. 1963. 215 с.
- Верета Л. А., Николаева С. П., Михеева Е. И. и др. // *Иммуноглобулины и другие препараты крови.* Л., 1976. С. 37.
- Верета Л. А., Николаева С. П., Михеева Е. И. и др. // *ЖМЭИ.* 1982. № 2. С. 11.
- Верета Л. А., Островская О. В., Николаева С. П., Пуховская Н. М. // *Вопросы вирусологии.* 1983. № 6. С. 706.
- Верета Л. А., Скоробрега В. З., Николаева С. П. и др. // *Мед. паразитол.* 1991. № 3. С. 54.
- Верхозина М. М., Демина Т. В., Козлова И. В. и др. // *Вестник Российской Военно-медицинской Академии.* 2008. № 2 (22), приложение, часть 2. С. 590.
- Верхозина М. М., Козлова И. В., Демина Т. В. и др. // *Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе.* СО РАН. Новосибирск, 2011. С. 84.
- Вершинский Б. В., Антыкова Л. П., Смылова Т. О. и др. // *Мед. паразитол.* 1988. № 3. С. 12.
- Визен Э. М., Чебасова Э. П. // *Педиатрия.* 1961. М., Вып. 8. С. 88.
- Волкова, Л. И., Образцова Р. Г. // *Клещевой энцефалит (к 65-летию открытия).* «Приморский полиграфкомбинат». Владивосток, 2002. С. 88.
- Воронкова Г. М., Захарычева Т. А., Николаева С. П. *Характеристика заболеваемости и клиники клещевого энцефалита у детей-жителей Хабаровского края и влияние специфической профилактики на его течение.* Хабаровск, 2004. 44 с.

- Воронкова Г. М., Захарычева Т. А., Николаева С. П., Владимиров Т. П. // Иммуноterapia клещевого энцефалита. Хабаровск, 2005. 91 с.
- Вотьяков В. И., Протас И. И., Жданов В. М. Западный клещевой энцефалит. «Беларусь». Минск, 1978. 256 с.
- Вотьяков В. И., Злобин В. И., Мишаева Н. П. Клещевые энцефалиты Евразии. Вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции. Наука. Новосибирск, 2002. 437 с.
- Гайдамович С. Я. // Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов. Наука. Новосибирск, 1972. С. 138.
- Галант И. Б. / Дальневосточный клещевой энцефалит. Хабаровск, 1948. 263 с.
- Галимов В. Р., Галимова А. А., Катин А. А., Колчанова Л. П. // 12-я Всесоюзная конференция по природной очаговости болезней. Тезисы докладов. М., 1989. С. 43.
- Гильманова Г. Х., Губайдуллина Ю. Ш. // Тр. Казан. НИИ эпидемиол., микробиол. и гигиены. 1959. Вып. 4. С. 53.
- Горчаковская Н. Н. // Научный обзор. Вирусы и вирусные заболевания. Вып. 1 (3). М., 1965. С. 128.
- Давыдова М. С., Лукин А. М. // Биологическое районирование Новосибирской области. Новосибирск, 1969. С. 250.
- Даниэл М., Черны В. // Мед. паразитол. 1986. № 2. С. 39.
- Данковский Н. Л. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 176.
- Данчинова Г. А. Автореф. дисс. ...докт. биол. наук. Иркутск, 2007. 45 с.
- Данчинова Г. А., Злобин В. И., Сунцова О. В. и др. // Паразитология в XXI веке — проблемы, методы, решения. Том 1. «Лема». СПб., 2008. С. 208.
- Данчук Г. М., Хазова Т. Г., Зверева Н. Г. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2012. № 2. С. 42.
- Демина Т. В., Джиоев Ю. П., Верховина М. М. и др. // Бюлл. Восточно-Сибирского Научного Центра Сибирского отд. РАМН. 2007. № 3. С. 94.
- Демина Т. В., Джиоев Ю. П., Верховина М. М. и др. // Вопросы вирусологии. 2009. № 3. С. 33.
- Демина Т. В., Джиоев Ю. П., Верховина М. М. и др. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. 2011. СО РАН. Новосибирск, С. 139.
- Добротворский А. К., Бахвалова В. Н., Харитонова Н. Н., Сфегина В. Ф. // Сиб. экол. журн. 1994. № 4. С. 369.
- Дроздов С. Г. // ЖМЭИ. 1959. № 3. С. 114.
- Дроздов С. Г. // ЖМЭИ. 1959. № 4. С. 102.
- Дубов А. В. (ред). // Опыт применения живой вакцины против клещевого энцефалита. Тюмень, 1971. 154 с.
- Думина А. Л. // Вопр. вирусол. 1958. № 3. С. 156.
- Думина А. Л. // Вопр. мед. вирусол. М., 1959. Вып. 6. С. 132.
- Ермакова Л. Р., Казакова В. Д. // Сб. тр. Ижевск. мед. инст. 1964. Т. 20, ч. 1. С. 48.
- Жданов В. М. (ред.) Заразные болезни человека. Академический справочник. Медгиз. М., 1955. 682 с.
- Жмаева З. М. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 118.
- Жмаева З. М. и Пчелкина А. А. // Биологические взаимоотношения между переносчиками и возбудителями болезней. Медицина. М., 1967. С. 32.
- Жукова Н. Г., Команденко Н. И., Подоплека Л. Е. Клещевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, профилактика, лечение). СТТ. Томск, 2002. 255 с.
- Земская А. А. // Зоол. журн. 1967. Т. 46, вып. 12. С. 1771.
- Земская А. А., Пчелкина А. А. // Биологическое взаимоотношение между переносчиками и возбудителями болезней. Медицина. М., 1967. С. 151.
- Земская А. А. // Паразитические гамазовые клещи и их медицинское значение. Медицина. М., 1973. 167 с.
- Зильбер Л. А. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 9.
- Зильбер Л. А. // Сов. мед. 1939а. Т. 23. С. 11.
- Зильбер Л. А. Эпидемические энцефалиты. Медгиз. М., 1945. 255 с.
- Зильбер Л. А. // Вопросы вирусологии. 1957. № 6. С. 323.
- Злобин В. И. // Биопрепараты. 2004. № 2 (14). С. 2.
- Злобин В. И. // Бюлл. сибирской мед. 2006. Т. 5. Приложение 1. С. 16.
- Злобин В. И., Верховина М. М., Демина Т. В. и др. // Вопросы вирусологии. 2007. № 6. С. 4.
- Злобин В. И., Газо М. Х., Беликов С. И. и др. // Вопросы вирусологии. 2001. № 4. С. 43.

- Злобин В. И., Горин О. З. Клещевой энцефалит. Этиология, эпидемиология и профилактика в Сибири. Наука. Новосибирск, 1996. 177 с.
- Злобин В. И., Демина Т. В., Беликов С. И. и др. // Вопросы вирусологии. 2001а. № 1. С. 17.
- Злобин В. И., Демина Т. В., Беликов С. И. и др. // Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. Наука. Иркутск, 2003. 271 с.
- Злобин В. И., Демина Т. В., Мамаев Л. В. и др. // Вопросы вирусологии. 2001б. № 1. С. 12.
- Иванова Л. М. // Вирусные нейроинфекции. М., 1958. С. 35.
- Иванова Л. М. // Мед. паразитол. 1961. № 4. С. 393.
- Иванова Л. М. Эпидемиологические особенности клещевого энцефалита в РСФСР. Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. М., 1969. 35 с.
- Иванова Л. М. // Мед. паразитол. 1982. № 3. С. 3.
- Иванова Л. М. // Мед. паразитол. 1984. № 2. С. 17.
- Иерусалимский А. П. // Клещевой энцефалит. Руководство для врачей. Новосибирск, 2001. 359 с.
- Ильенко В. И. // Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсиозных болезней. Медицина. М., 1965. С. 377.
- Каган Н. В. // Арх. Биол. наук. 1939. № 2. С. 97.
- Каленчук В. У., Мишаева Н. П. // Вопросы лабораторной диагностики вирусных инфекций. Минск, 1976. С. 60.
- Караванов А. С., Пиванова Г. П., Бычкова М. В. // Вопросы вирусологии. 1988. № 5. С. 633.
- Карганова Г. Г. // Мат. IV Всеросс. съезда паразитол. общ. при РАН. С.-Пб., 2008. Т. 2. С. 23.
- Карганова Г. Г. // Национальные приоритеты России. 2011. 32 (5). С. 24.
- Карганова Г. Г., Гмыль А. П., Романова Л. Ю., Гмыль Л. В. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. «Гриф и К». М., 2007. С.30.
- Карпов С. П. // ЖМЭИ. 1976. № 3. С. 3.
- Карпов С. П., Попов В. М., Колмакова А. Г. // Тр. Ин-та зоологии АН Каз. ССР. 1960. Т. 12. С. 21.
- Карпов С. П., Федоров Ю. В. Эпидемиология и профилактика клещевого энцефалита. ТГУ. Томск, 1963. 227 с.
- Карпов С. П., Федоров Ю. В. Иммунология клещевого энцефалита. ТГУ. Томск, 1969. 184 с.
- Катин А. А. // Клещевой энцефалит и омская геморрагическая лихорадка в Тюменской области. Омск, 1983. С. 22.
- Катин А. А., Дубов А. В., Горожанкина Т. С. // Вопр. краевой инфекционной патологии. Тюмень, 1969. С. 29.
- Кашкаров Д. Н. // Основы экологии животных. Учпедгиз. Л., 1944. 383 с.
- Кветкова Э. А. // Иммунопатогенез и морфогенез инфекционного и вакцинального процесса при клещевом энцефалите. Пособие для врачей. Омск, 2004. 31 с.
- Киселев Л. Л., Левина Е. С. Лев Александрович Зильбер 1894–1966. Жизнь в науке. Наука. М., 2005. 699 с.
- Кларк Д. Х. // Бюлл. ВОЗ. 1964. Т. 31, № 1. С. 50.
- Ковалевский Ю. В., Акименко М. В., Баженов Т. В., Эрлих В. Д. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 162.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1987. № 3. С. 3.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1990. № 3. С. 5.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Баннова Г. Г. и Караванов А. С. // Мед. паразитол. 1989. № 6. С. 15.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Паразитология. 2004. Т. 38, № 2. С. 105.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Елесина Ф. С. и др. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969а. С. 181.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Лев М. И. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 3. С. 22.
- Козлова И. В., Верхозина М. М., Демина Т. В. и др. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 146.
- Кондрашова З. Н. // Матер. 16-й научн. сессии Ин-та полиомиелита и вирусн. энцефалитов. М., 1969. Т. 2. Арбовирусы. С. 16.
- Кондрашова З. Н. // Клещевой энцефалит и другие природноочаговые инфекции. Свердловск., 1970. С. 22.
- Кондрашова З. Н., Котельникова Г. М. // Мед. паразитол. 1975. Т. 44, № 1. С. 25.
- Кондрашова З. Н., Филипповец В. В. // Вопросы вирусологии. 1970. № 6. С. 703.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1962. Т. 41. вып. 8. С. 1220.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1966. Т. 45. вып. 2. С. 245.

- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1970. Т. 49, вып. 1. С. 169.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1974. Т. 53, вып. 2. С. 165.
- Коренберг Э. И. // II съезд Всесоюзного териологического общества. М., 1978. С. 257.
- Коренберг Э. И. Биохорологическая структура вида (на примере таежного клеща). Наука. М., 1979. 171 с.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1979а. Т. 58, вып. 4. С. 542.
- Коренберг Э. И. // Природноочаговые инфекции и инвазии. Вильнюс. 1979б. С. 66.
- Коренберг Э. И. // ЖМЭИ. 1981. № 11. С. 93.
- Коренберг Э. И. Что такое природный очаг. Знание. М., 1983. 58 с.
- Коренберг Э. И. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 188.
- Коренберг Э. И. // ЖМЭИ. 1985а. № 3. С. 99.
- Коренберг Э. И. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Медицина. М., 1989. С. 256.
- Коренберг Э. И. // РЭТ-инфо. 1999. № 1. С. 12.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. М., 2002. Т. 2. С. 49.
- Коренберг Э. И. // Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина. М., 2003. С. 387.
- Коренберг Э. И. // Изменение климата и здоровье населения России в XXI веке. 2004. Адамант. М., С. 54.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 2008 № 3. С. 3.
- Коренберг Э. И., Баннова Г. Г., Ковалевский Ю. В., Караванов А. С. // Вопр. вирусологии. 1986. № 3. С. 319.
- Коренберг Э. И., Баннова Г. Г., Ковалевский Ю. В., Караванов А. С. // Вопр. вирусологии. 1988. № 4. С. 456.
- Коренберг Э. И., Барановский П. М. и Винокурова Н. С. // Паразитология. 1981. Т. 15, № 5. С. 451.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. и др. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Пермь, 2007. 66 с.
- Коренберг Э. И., Дзюба М. И., Жуков В. И. // Зоол. журн. 1971. Т. 50, вып. 1. С. 41.
- Коренберг Э. И., Жуков В. И., Шаткаускас А. В., Бушуева Л. К. // Зоол. журн. 1969. 48, вып. 7. С. 1003.
- Коренберг Э. И., Иванова Л. М. // Мед. паразитол. 1967. Т. 36, № 3. С. 270.
- Коренберг Э. И., Иванова Л. М., Неуронов А. М. // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики клещевого энцефалита. Иркутск, 1990. С. 69.
- Коренберг Э. И., Иванова Л. М., Юркова Е. В. // Мед. паразитол. 1986. № 2. С. 35.
- Коренберг Э. И., Карпенко А. С. // Зоол. журн. 1972. Т. 51, вып. 4. С. 496.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Зоол. журн. 1977. Т. 56, вып. 10. С. 1467.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Районирование ареала клещевого энцефалита. Итоги науки и техники: Медицинская география. ВИНТИ. М., 1981. Т. 11. 148 с.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 193.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Паразитология. 1986. Т. 20, № 2. С. 139.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Проблемы клещевых и паразитарных заболеваний. СПб., 2000. С. 13.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузиков И. В. и др. // Зоол. журн. 1976. Т. 55, вып. 2. С. 282.
- Коренберг Э. И., Кучерук В. В., Погореленко Л. И. и др. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 142.
- Коренберг Э. И., Лебедева Н. Н. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 200.
- Коренберг Э. И., Лебедева Н. Н., Жуков В. И. // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1974. Т. 79, вып. 4. С. 34.
- Коренберг Э. И., Левин М. Л. // Зоол. журн. 1983. Т. 62, вып. 3. С. 431.
- Коренберг Э. И., Лихачева Т. В. // Биопрепараты. 2004. № 2 (14). С. 13.
- Коренберг Э. И., Мотеюнас Л. И., Поденайте В. И. и др. // Паразитология. 1975. Т. 9, № 3. С. 260.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А. // Мед. паразитол. 1967. Т. 36, № 1. С. 66.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А. // Мед. паразитол. 1968. Т. 37, № 3. С. 279.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 235.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А. // Мед. паразитол. 1975. № 2. С. 181.

- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А. // Паразитология. 1984. Т. 18, № 2. С. 181.
- Коренберг Э. И., Суворова Л. Г., Ковалевский Ю. В., Тушикова Н. В. // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1964. Т. 69, вып. 5. С. 16.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А., Солошенко И. З., Дунаева Т. Н. // Зоол. журн. 1975. Т. 54.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А., Ковалевский Ю. В. // Ж. гиг., эпидемиол., микробиол., иммунол. 1984а. Т. 28, № 1. С. 61.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А., Спицина Л. Н. // Ж. гиг., эпидемиол., микробиол., иммунол. 1984. Т. 28, № 1. С. 69.
- Коротков Ю. С. // Вопросы вирусологии. 2005. Т. 50, № 3. С. 52.
- Коротков Ю. С. // Паразитология в XXI — проблемы, методы, решения. «Лема», СПб., 2008. С. 88.
- Коротков Ю. С., Кисленко Г. С. // Паразитология. 2001. Т. 35, № 4. С. 265.
- Коротков Ю. С., Никитин А. Я., Антонова А. М. и др. // Бюлл. Восточно-Сиб. Научного Центра СО РАМН. 2007. № 3, приложение. С. 126.
- Коротков Ю. С., Пиванова Г. П., Буренкова Л. А., Карганова Г. Г. // Дальневосточный журн. инфекц. патол. 2007а. № 11. С.108.
- Краминский В. А. // Проблемы клещевого энцефалита в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке. М., 1973. 93 с.
- Кузякин А. П. // Зоол. журн. 1942. Т. 21, вып. 3. С. 69.
- Куренков В. Б., Чунихин С. П., Кочеткова Г. А. и др. // Мед. паразитол. 1981. № 1. С. 53.
- Кучерук В. В. // Вестник АМН СССР. 1980. № 10. С. 24.
- Кучерук В. В., Жмаева З. М., Шилов М. Н. // Вопр. краев. Общ. эксперимент. паразитол. и мед. зоол. 1953. Т. 8. С. 108.
- Кучерук В. В., Земская А. А., Ковалевский Ю. В. и др. // Методы медико-географических исследований. М., 1965. С. 169.
- Кучерук В. В., Иванова Л. М. и Неронов В. М. // География природноочаговых болезней человека в связи с задачами их профилактики. Медицина. М., 1969. С. 171.
- Кучерук В. В., Коренберг Э. И., Шулепова Т. Г. и др. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 15.
- Кучерук В. В., Пчелкина А. А. // Вопр. вирусологии. 1966. Т. 3. С. 352.
- Кучерук В. В., Пчелкина А. А., Никитина Н. А. и др. // Мед. паразитол. 1965. Т. 34, № 3. С. 259.
- Лашкевич В. А., Карганова Г. Г. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 31.
- Левин М. Л. // Зоол. журн. 1987. Т. 66, вып. 3. С. 348.
- Левин М. Л., Баннова Г. Г. и Караванов А. С. // Природноочаговые инфекции зоны хозяйственного освоения БАМ. М., 1987. С. 73.
- Левкович Е. Н., Засухина Г. Д. // Вестник АМН СССР. 1960. № 1. С. 53.
- Левкович Е. Н., Погодина В. В., Засухина Г. Д., Карнович Л. Г. // Вирусы комплекса клещевого энцефалита. Медицина. Л., 1967. 245 с.
- Левкович Е. Н., Сарманова Е. С., Погодина В. В., Николаева Г. Н. // Вопр. мед. вирусол. М., 1959. Вып. 6. С.28.
- Левкович Е. Н., Сарманова Е. С., Думина А. Л. // Природная очаговость болезней человека и краевая эпидемиология. Медгиз. М., 1955. С. 283.
- Левкович Е. Н. и Скрынник А. П. // Тр. Военно-мед. акад. им. Кирова. 1941. Т. 25. С. 23.
- Левкович Е. Н., Тагильцев А. А. // Мед. паразитол. 1956. Т. 25, № 3. С. 229.
- Леонова Г. Н. // Вопросы вирусологии. 1996. № 5. С. 224.
- Леонова Г. Н. // Вопросы вирусологии. 1996а. № 6. С. 260.
- Леонова Г. Н. // Клещевой энцефалит в Приморском крае. «Дальнаука». Владивосток. 1997. 189 с.
- Леонова Г. Н. // Клещевой энцефалит: актуальные аспекты. Изд. И. В. Балабанов. М., 2009. 168 с.
- Леонова Г. Н. // Вестник Уральск. гос. мед. акад. 2010. Вып. 21. С. 191.
- Леонова Г. Н., Майстровская О. С. // Вопросы вирусологии. 1996. № 5. С. 224.
- Ливанова Н. Н., Ливанов С. Г. // Паразитология. 2006. Т. 40, № 4. С. 396.
- Локтев В. Б. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. 2011. Новосибирск, СО РАН. С. 257.
- Локтев В. Б., Терновой В. А., Нетесов С. В. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 10.
- Лопатин А. Н., Львов Д. К., Бабкин П. С. // Вопр. вирусологии. 1962. № 6. С. 741.
- Лутта А. С., Хейсин Е. М., Шульман Р. Е. // Иксодовые клещи КАССР и меры борьбы с ними. Петрозаводск, 1959. 68 с.
- Лыков В. А. // Зоол. журн. 1967. Т. 46, № 1. С.136.
- Лыков В. А., Митрофанова Ю. Г. // Учен. зап. Пермск. универс. 1971. Т. 249. С. 10.

- Львов Д. К. // Мед. паразитол. 1961. Т. 30, № 6. С. 716.
- Львов Д. К., Злобин В. И. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 26.
- Львов Д. К., Гагарина А. В. // Вирусы и вирусные заболевания. Вып. 1 (3). М., 1965. С. 97.
- Львов Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С. Я. / Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Медицина. М., 1989. 335 с.
- Львов Д. К., Лебедев А. Д. Экология арбовирусов. Медицина. М., 1974. 183 с.
- Львов Д. К., Покровский В. И. // Руководство по зоонозам. Медицина. Л., 1983. С. 81.
- Любезнова О. Н., Бондаренко А. Л. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2012. № 2. С. 48.
- Малькова М. Г., Якименко, Танцев А. К. и др. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 55.
- Материалы X съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 1–2. 576 с.
- Медведева Г. И., Осинцева Т. С. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 94.
- Мельнищева Л. А. // Природноочаговые болезни Западной Сибири. Новосибирск, 1965. С. 30.
- Мельникова О. В., Ботвинкин А. Д., Данчинова Г. А. // Журн. инфекц. патол. 1996. Т. 3, № 1. С. 14.
- Мерзлова Н. Б., Самаров М. Н. // Мед. паразитол. 2012. № 2. С. 23.
- Методические рекомендации. Вирусологическое исследование отдельных экземпляров клещей с использованием методов микроанализа. МЗ СССР. М., 1986. 15 с.
- Михайлов М. И., Погодина В. В. (ред.) Воспоминания о Михаиле Петровиче Чумакове. М., 2009. 280 с.
- Мишаева Н. М. // Экология вирусов, связанных с птицами. Минск., 1974. С. 25.
- Мишаева Н. М. // Здравоохранение Белоруссии. 1975. № 6. С. 16.
- Мишаева Н. М. // Актуальные вопросы экологии вирусов. Минск, 1976. С. 72.
- Мишаева Н. М. // Актуальные вопросы экологии вирусов. Минск, 1976а. С. 77.
- Мишаева Н. М. // Актуальные вопросы экологии вирусов. Минск, 1976б. С. 49.
- Мишаева Н. М. Автореф. дисс. ...докт. биол. наук. ИПиВЭ. М., 1985.
- Мишаева Н. М., Азарова И. А. и Тарасенко А. В. // Мед. паразитол. 1990. № 1. С. 36.
- Мишаева Н. М., Вотяков В. И. // Вопросы вирусологии. 1978. № 2. С. 232.
- Мишаева Н. М., Вотяков В. И., Ходько Л. П., Каленчук В. И. // Экология вирусов. М., 1974. Вып. 2. С. 23.
- Мишаева Н. М., Ерофеева Н. И. // Паразитология. 1979. Т. 13, вып. 3. С. 218.
- Мишаева Н. М., Ходько Л. П., Каленчук В. И. // Экология вирусов, связанных с птицами. Минск, 1974а. С. 27.
- Морозов Ю. В. // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1961. Т. 66, вып. 3. С. 5.
- Морозов Ю. В. // Клещевой энцефалит. «Беларусь». Минск, 1965. С. 39.
- Морозов Ю. В., Шилова С. А. // Тр. центр. НИИ дератизации. М., 1965. Т. 17. С. 245.
- Москвин И. А. // Доклады АН СССР. 1940. Т. 28. № 2. С. 189.
- Надеждина М. В. // Журн. невропатол. психиатр. 2001. № 4. С. 10.
- Наумов Н. П. / Экология животных. «Советская наука». М., 1955. 533 с.
- Наумов Р. Л. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 278.
- Наумов Р. Л., Арумова Е. А., Гутова В. П., Бельмаков В. С. // Экология вирусов. Баку, 1976. С. 109.
- Наумов Р. Л., Гутова В. П. // Мед. паразитол. 1977. Т. 46, № 3. С. 346.
- Наумов Р. Л., Гутова В. П., Чунихин С. П. // Мед. паразитол. 1983. Т. 31, № 3. С. 78.
- Наумов Р. Л., Левкович Е. Н., Ржахова О. Е. // Мед. паразитол. 1984. Т. 32, № 1. С. 18.
- Наумов Р. Л., Ржахова О. Е., Лебедева Н. Н. // Тр. Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. 1970. Т. 18. С. 74.
- Наумов Р. Л., Чунихин С. П., Гутова В. П. // Мед. паразитол. 1984. Т. 32, № 5. С. 83.
- Негробов В. П., Зюзин В. С., Алексеенко Н. Д., Бородин В. С. // *Angewandte Parazitol.* 1962. Vol. 3, No. 4. P. 108.
- Неронов В. М., Иванова Л. М. // Методы медико-географических исследований. М., 1965. С. 149.
- Нецкий Г. И. и Богданов И. И. // Мед. паразитол. 1966. Т. 35, № 3. С. 290.
- Нецкий Г. И., Богданов И. И., Мальков Г. Б. и др. // Эпидемиологическая география клещевого энцефалита, ОГЛ и клещевого риккетсиоза Азии в Западной Сибири. Омск, 1973. С. 41.
- Никитин, А. Я., Антонова, А. М. // Учеты, прогнозирование и регуляция численности таежного клеща в рекреационной зоне г. Иркутска. ИГУ. Иркутск, 2005. 116 с.

- Никитина Н. А., Пчелкина А. А., Ковалевская Я. И. // Мед. паразитол. 1967. Т. 36. № 4. С. 474.
- Никитина Н. А., Пчелкина А. А., Ковалевская Я. И. // Зоол. журн. 1968. Т. 47, вып. 5. С. 748.
- Никитина Н. А., Пчелкина А. А., Суворова Л. Г. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 197.
- Никифоров Л. П. // Вопросы эпидемиологии клещевого энцефалита и биологические закономерности в его природном очаге. Медицина. М., 1968. С. 38.
- Никифоров Л. П., Беклемишев В. Н., Фастовская Э. И. и Львов Д. К. // ЖГЭМИ. 1963. Т. 7. С. 267.
- Окулова Н. М. // Природная очаговость клещевого энцефалита (библиография публикаций на русском языке). М., 1972. 279 с.
- Окулова Н. М. // Биологические взаимосвязи в лесных экосистемах (на примере природных очагов клещевого энцефалита). Наука. М., 1986. 248 с.
- Окулова Н. М., Баннова Г. Г., Михайлова И. С. // Медицинская вирусология. 1973. Т. 21, № 1. С. 89.
- Олсуфьев Н. Г. // Вопр. краевой, общей, эксперимент. паразитол. и мед. зоол. 1953. Т. 8. С. 49.
- Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. // Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. Медицина. М., 1970. 272 с.
- Ольшевская В. Л. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 164.
- Онищенко Г. Г. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2000. № 4. С. 4.
- Онищенко Г. Г. Эпидемиологическая обстановка в Российской Федерации и основные направления деятельности по ее стабилизации. М., 2002.
- Онищенко Г. Г., Федоров Ю. М., Пакскина Н. Д. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 8.
- Павловский Е. Н. // Архив биол. наук. 1940. Т. 59, вып. 2. № 7–8. С. 58.
- Павловский Е. Н. // Докл. АН СССР. 1940а. Т. 28, № 2. С. 186.
- Павловский Е. Н. (ред.) Паразитология Дальнего Востока. Медгиз. Л., 1947. 427 с.
- Павловский Е. Н. (ред.) Природноочаговые болезни человека. Медгиз. М., 1960. 327 с.
- Павловский Е. Н. // Зоол. журн. 1963. Т. 42, № 3. С. 321.
- Павловский Е. Н., Соловьев В. Д. // Архив биол. наук. 1940. Т. 59, № 1–2. С. 111.
- Панов А. Г. // Клещевой энцефалит. Медгиз. Л. 1956. 283 с.
- Петрищева П. А. // Клещевой энцефалит. Инст. сан. просвещ. М., 1958. 78 с.
- Петрищева П. А. // Зоол. журн. 1964. Т. 43, № 3. С. 344.
- Петрищева П. А. // Биологическое взаимоотношение между переносчиками и возбудителями болезней. Медицина. М., 1967. С. 17.
- Петрищева П. А., Левкович Е. Н. // Весенне-летний энцефалит в Ленинградской области (Труды врачей Волховского фронта). Упр. полиграф. и изд. Леноблсовета. Л., 1945. С. 71.
- Пионтковская С. П., Жмаева З. М. // Переносчики возбудителей природноочаговых болезней. Гос. изд. мед. лит. М., 1962. С. 196.
- Погодина В. В. // Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами. Иркутск, 1996. С. 102.
- Погодина В. В. (ред.) // Воспоминания о Елизавете Николаевне Левкович. М., 2001. 201 с.
- Погодина В. В. // Вопросы вирусологии. 2005. № 3. С. 7.
- Погодина В. В. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 5.
- Погодина В. В. // Биомедицина XXI века. Достижения и перспективные направления развития. РАЕН. М., 2008. С. 302.
- Погодина В. В., Бочкова Н. Г., Карань Л. С., и др. // Вопросы вирусологии. 2004. № 6. С. 24.
- Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. и др. // Вопр. вирусологии. 2004а. № 4. С. 20.
- Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 16.
- Погодина В. В., Фролова П. М., Ерман Б. А. // Хронический клещевой энцефалит. Наука. Новосибирск, 1986. 233 с.
- Покровский В. И. (ред.) Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Медицина, М., 1993. Т. 2. 465 с.
- Покровский В. И., Онищенко Г. Г., Черкасский Б. Л. Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина, М., 2003. 664 с.
- Померанцев Б. И., Сердюкова Г. В. // Зоол. журн. 1940. Т. 19, вып. 2. С. 336.
- Померанцев Б. И., Сердюкова Г. В. // Паразитол. сб. Зоол. ин-та АН СССР. 1947. Вып. 9. С. 47.
- Попов В. Ф. // Клещевой энцефалит. Минск, 1965. С. 332.

- Попов В. Ф. // Мед. паразитол. 1967. № 3. С. 288.
- Попов В. Ф., Иванова Л. М. // ЖМЭИ. 1968. 10. С. 36.
- Попонникова Т. В., Бедарева Т. Ю., Вахрамеева Т. Н. и др. // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 46, № 6. С. 54.
- Попонникова Т. В., Галиева Г. Ю., Новиков В. Э., Галаганова Л. Г. // Рус. журн. детской неврологии. 2011. Т. 6, вып. 2. С. 11.
- Пчелкина А. А., Коренберг Э. И., Земская А. А. и др. // Второе акарологическое совещание. Тезисы докладов. «Наукова думка». Киев, Часть 2. 1970. С. 96.
- Пчелкина А. А., Никитина Н. А., Кулик И. Л. // Мед. паразитол. 1969. Т. 38, № 4. С. 431.
- Разумова И. В. // Паразитология. 1982. Т. 17, вып. 5. С. 347.
- Разумова И. В., Алексеев А. Н. // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 2. С. 147.
- Расницын С. П. // Мед. паразитол. 1976. Т. 45, № 3. С. 269.
- Репкина Л. В. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 232.
- Репкина Л. В., Успенский И. В. // Паразитология. 1980. Т. 14, № 2. С. 118.
- Рикфлекс Р. // Основы общей экологии. Мир. М., 1979. 424 с.
- Савицкий Б. П. // Научн. докл. высшей школы. Биол. науки. 1970. № 7. С. 26.
- Савойский И. И. и Чагин К. П. // Врачебное дело. 1947. Т. 27, № 10. С. 1003.
- Сапегина В. Ф., Доронцова В. А., Телегин В. И. и др. // Паразитология. 1985. Т. 19, вып. 5. С. 370.
- Сарманова Е. С. // Научный обзор. Вирусы и вирусные заболевания. Вып. 1 (3). М., 1965. С. 53.
- Северцов А. С. // Эволюционный стазис и микроэволюция. КМК. М., 2008. 176 с.
- Смирнов В. М., Равкин Ю. С. // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. Наука. Новосибирск, 1967. С. 126.
- Сморodinцев А. А. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 38.
- Сморodinцев А. А., Дубов А. В. // Клещевой энцефалит и его вакцинопрофилактика. Медицина. Л., 1986. 230 с.
- Соловьёв В. Д. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 132.
- Соловьёв В. Д. // ЖМЭИ. 1941. № 4. С. 20.
- Соловьёв В. Д. // Тр. ВМА. 1941а. Т. 25. С. 95.
- Соловьёв В. Д. // Невропат. и психиатр. 1943. № 3. С. 42.
- Соловьёв В. Д. // Весенне-летний клещевой энцефалит. «Советская наука». М., 1944. 112 с.
- Стародубцева Г. И., Корзухина Л. Ф. // Тр. Пермск. мед. ин-та. 1967. Т. 68. С. 83.
- Тагильцев А. А. // Мед. паразитол. 1958. Т. 27, № 1. С. 34.
- Тагильцев А. А. // ЖМЭИ. 1960. № 5. С. 69.
- Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н. // Членистоногие убежищного комплекса в природных очагах арбовирусных инфекций. Наука. Новосибирск, 1982. 231 с.
- Толоконская Н. П., Чабанов Д. А., Казакова Ю. В., Проворова В. В. // Методическое руководство по совершенствованию профилактики, диагностики и терапии клещевого энцефалита. Новосибирск, 2007. 52 с.
- Тупикова Н. В., Суворова Л. Г., Коренберг Э. И. // Фауна и экология грызунов. МГУ. М., 1980. Вып. 14. С. 158.
- Унанов С. С., Неустров В. Д., Левченко Е. Н. // Вопр. вирусологии. 1965. № 6. С. 674.
- Устинов С. К. // Тр. Иркут. НИИЭМГ. 1962. Вып. 7. С. 86.
- Устинов С. К. // Записки Забайкальск. филиала геогр. об-ва СССР. 1972. Т. 73. С. 73.
- Фастовская В. Г., Присягина Л. А. // Вопросы эпидемиологии клещевого энцефалита и биологические закономерности в его природном очаге. Медицина. М., 1968. С. 344.
- Федоров В. Г. // Мед. паразитол. 1968. № 5. С. 615.
- Феоктистов А. З., Чипанин В. М., Черных П. А. // Вопр. эпидемиол. и эпизоотол. особоопасных инфекций. 1968. № 1. С. 321.
- Филиппова Н. А. // Фауна СССР. Паукообразные. Т. IV, вып. 4. Иксодовые клещи подсем. *Ixodinae*. Наука. Л., 1977. 396 с.
- Филиппова Н. А. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 204.
- Фризен В. И., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. № 2. С. 27.
- Хазова Т. Г. // Бюлл. Сиб. отдел. РАМН. 2007. № 4. С. 94.
- Хазова Т. Г., Якимова Е. С., Белова Е. А., Данчук Г. М. // Журн. инфекц. патол. 2010. Т. 17, № 3. С. 144.

- Хейсин Е. М., Бочкарева К. и Лавриненко Л. // Тр. Карело-Финского гос. универс. 1955. Т. 6. С. 72.
- Хлебутина Л.А., Демчук Г.И., Ярков В.Л. // Природноочаговые инфекции и инвазии. Пермь, 1990. С. 16.
- Цилинский Я.Я., Львов Д.К. // Популяционная генетика вирусов позвоночных. Медицина. М., 1977. 191 с.
- Черкасский Б.Л. // Инфекционные и паразитарные болезни человека. Справочник эпидемиолога. «Медицинская газета». М. 1994. 617 с.
- Черкасский Б.Л. (ред.) // Частная эпидемиология. М. 2002. Т. 2. 259 с.
- Чернов Ю.И. // Природная зональность и животный мир суши. Мысль. М. 1975. 222 с.
- Черных П.А., Сонин В.Р., Феоктистов А.З. // Докл. Иркутск. противочумн. ин-та. 1962. Вып. 3. С. 158.
- Чумаков М.П. // Архив биол. наук. 1940. Т. 57. Вып. 1–2. С. 104.
- Чумаков М.П. // Мед. паразитол. 1944. Т. 13, № 6. С. 38.
- Чумаков М.П. // Вопр. вирусологии. 1965. № 3. С. 376.
- Чумаков М.П., Воробьев Н.Н., Софронова Н.Е. // Архив биол. наук. 1940. Т. 59, вып. 1–2. С. 86.
- Чумаков М.П., Газарина, А.В., Вильнер Л.М. и др. // Вопр. вирусологии. 1963. № 4. С. 415.
- Чумаков М.П., Зейтленок Н.А. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 112.
- Чумаков М.П., Найденова Г.А. // Мед. паразитол. 1944. Т. 13, № 4. С. 89.
- Чунихин С.П. // Мед. паразитол. 1973. Т. 42, № 6. С. 730.
- Чунихин С.П. // Медицинская вирусология. 1973а. Т. 21, № 1. С. 7.
- Чунихин С.П. // Материалы всесоюз. конф. по миграциям птиц. М., 1975. Ч. 2. С. 151.
- Чунихин С.П., Куренков В.Б., Леонова Г.Н. и др. // Мед. паразитол. 1981. № 5. С. 76.
- Чунихин С.П., Леонова Г.Н. // Экология и географическое распространение арбовирусов. Медицина. М., 1985. 127 с.
- Чунихин С.П., Стефуткина Л.Ф., Королева М.Б. и др. // Паразитология. 1983. Т. 17, № 3. С. 214.
- Шаповал А.Н. Клещевой энцефаломиелит. Медгиз. Л., 1961. 318 с.
- Шаповал А.Н. Хронические формы клещевого энцефалита. Медицина. Л., 1976. 176 с.
- Шаповал А.Н. Профилактика клещевого энцефалита. Медицина. М., 1977. 47 с.
- Шаповал А.Н. Клещевой энцефаломиелит. Медицина. Л., 1980. 255 с.
- Шаповал А.Н., Анисимов Н.О., Коренберг Э.И. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилежащих областях. Ижевск, 1969. С. 33.
- Шаповал А.Н., Глазунов И.С., Левкович Е.Н. и Чумаков М.П. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 150.
- Шаповал А.Н., Угрюмова Н.Г. // Сб. работ по педиатр. Хабаровск. мед. инст. № 2. 1941. С. 26.
- Шашина Н.И. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 275.
- Шилова С.А. // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1960. Т. 65, вып. 1. С. 37.
- Шилова С.А. // Мед. паразитол. 1963. Т. 32, № 3. С. 296.
- Шилова С.А., Чабовский В.И. // Бюлл. МОИП, отд. биол. 1960. Т. 65, вып. 5. С. 40.
- Шубладзе А.К., Сердюкова Г.В. // Архив биол. наук. 1939. Т. 56, вып. 2. С. 121.
- Элберт Л.Б., Красильников И.В., Дроздов С.Г. и др. // Вопр. вирусологии. 1983. № 1. С. 90.
- Ягодинский В.Н. Динамика эпидемического процесса. Медицина. М., 1977. 240 с.
- Ягодинский В.Н. и Александров Ю.В. // Докл. Иркутск. ПЧИ. 1962. Т. 4. С. 94.
- Ягодинский В.Н., Александров Ю.В. // Матер. 11-й научн. сессии Ин-та полиомиелита и вирус. энцефалитов. М., 1964. С. 209.
- Яхонтов В.В. Экология насекомых. «Высшая школа». М., 1964. 459 с.
- Ackermann R., Rehse-Küpper B., Loser R., Scheid W. // Dtsch. Med. Wschr. 1968. 93. P. 1747.
- Alekseev A.N. // Ecological parasitol. 1991. Vol. 1, No. 1. P.51.
- Apitzsch G. // Zetschrift gesam.Hyg. und Grenzgeb. Jahr. 1965. Vol. 2–1, No. 9. P. 65.
- Ašmera I., Tejše M., Tomanek I. // Zool. Listy. 1965. Vol. 14, No. 2. P. 98.
- Avšič-Županc T., Poljak M., Maticic M. // Clin. Diagn. Virol. 1995. No. 4. P. 51.
- Barrett P.N., Sshober-Bendixen S., Ehrlich H.J. // Vaccine. 2003. Vol. 21, Suppl. 1. P. 41.
- Benda R. // Журн. гигиены, эпидемиол., микробиол., иммунол. 1958. Т. 2, No. 4. С. 447.
- Benda R. // Журн. гигиены, эпидемиол., микробиол., иммунол. 1958а. Т. 2, No. 4. С. 467.
- Blaškovič D. // Wiener klin. Wschr. 1958. 70. P. 742.

- Blaškovič D. // Журн. гигиены, эпидемиол., микробиол. и иммунол. 1960. No. 3. С. 269.
- Blaškovič D. and others // *Studies on Tick-borne Encephalitis*. WHO. Genève. 1967. 95 p.
- Blaškovič D. and Nosek J. // *Progr. Med. Virol. Basel.*, 1972. 14. P. 275.
- Bolzoni L., Rosa R., Cagnacci F., Rizzoli A. // *Int. J. Parasitol.* 2012. Vol. 42 (4). P. 373.
- Bormane A., Lucenko L., Ducks A. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2004. Vol. 293. P. 36.
- Bröker M. // *Jpn. Infect. Dis.* 2002. P. 55.
- Bröker M., Gniel D. // *Travel Medicine.* 2003. No. 1. P. 181.
- Burenhult E., Falt G., Settergren B. // *Lakartidningen.* 2002. Vol. 99. P. 2380.
- Cagnacci F., Bolzoni L., Rosa R. et al. // *Int. J. Parasitol.* 2012. Vol. 42 (4). P. 365.
- Casati S., Gern L., Jean-Claude P. // *J. General Virol.* 2006. Vol. 88. No. 8. P. 2235.
- Charrel R.N., Attoui H., Butenko A. M. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2004. Vol. 10, 12. P. 1040.
- Chausov E. Vol., Ternovoi Vol. A., Protopopova E. Vol. et al. // *VBZD.* 2010. 10 (4). P. 365.
- Chunikhin S. P., Kurenkov Vol. B. // *Acta virologica.* 1979. Vol. 23. P. 257.
- Craine N. G., Randolph S. E., Nuttall P. A. // *Folia Parasitol.* 1995. Vol. 42. P. 73.
- Daniel M., Kolář J., Zeman P. et al. // *Exp. Appl. Acarol.* 1998. Vol. 22. P. 417.
- Danielová Vol. // *Folia Parasitol.* 1990. Vol. 37. P. 279.
- Danielová Vol., Daniel M., Schwarzová L. et al. // *VBZ.* 2010. Vol. 10. P. 223.
- Danielová Vol., Holubová J., Pejšoch M., Daniel M. // *Folia Parasitol.* 2002. Vol. 49. P. 323.
- Danielová Vol., Rudenko N., Daniel M. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2006. Vol. 296 (Sup.1). P. 48.
- Danielová Vol., Schwarzová L., Materna L. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2008. Vol. 298 (Sup.1). P. 68.
- Demina T. Vol., Dzhiyev Yu.P., Verkhosina M. M. et al. // *J. Med. Virol.* 2010. Vol. 82. P. 965.
- Dobler G., Gniel D., Petermann R., Pfeiffer M. // *Wien. Med. Wschr.* 2012. 162. P. 230.
- Dumpis U., Crook D., and Oksi J. // *Clin. Infect. Dis.* 1999. 28. P. 882.
- Ecker M., Allison S. L., Meixner T., and Heinz F. X. // *J. Gen. Virol.* 1999. 80. P. 179.
- Eisen L. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2008. Vol. 298 (Sup. 1). P. 12.
- Ernek E., Škoda R. // *Vet. Časpis.* 1958. Vol. 7, No. 4. P. 334.
- Estrada-Pena A. // *Parasitol. Res.* 2008. Vol. 103. Suppl. 1. P. 87.
- Estrada-Pena A. // *Frontiers in Bioscience.* 2009. Vol. 14. P. 2674.
- Fauquet C. M., Mayo M. A., Maniloff J. et al. (eds.) // *Virus Taxonomy*. Elsevier Academic Press. Amsterdam. 2005. P. 982.
- Földvári G., Rigó K., Jablonszky M. et al. // *TTBD.* 2011. Vol. 2. P. 231.
- Fomsgaard A., Christiansen C. B., Bødger R. // *Eurosurveillance.* 2009. Vol. 14 (36). P. 19325.
- Freundt E. // *Ugeskr. Loeg* 1963. 125. P. 1098.
- Gallia F., Rampas J., Hollender L. // *Ca. Lek. Ces.* 1949. 88. P. 224.
- Gigon F. // *Biologie d' Ixodes ricinus L. sur le Plateau Suisse.* Neuchatel. 1985. 238 p.
- Gould A. E., Zanutto P. M. de A., Holmes E. C. // *Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases.* Paris, 1997. P. 51.
- Gray J. S. // *ReVol. Med. Vet. Entomol.* 1991. Vol. 79. P. 323.
- Gray J. S. // *J. Med. Microbiol.* 2008. Vol. 298 (Sup. 1). P. 19.
- Gray J. S., Dautel H., Estrada-Peña A. et al. // *Online Journal «Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases».* 2009, Article ID.
- Grešiková M. // *Acta virol.* 1958. Vol. 2, No. 3. P. 188.
- Grešiková M. // *Acta virol.* 1958a. Vol. 2, No. 2. P. 113.
- Grešiková M. // *Biol. Prace.* 1972. Vol. 18, 2. P. 188.
- Grešiková M., Ernek E. // *Theoretical Questions of Natural Foci of Diseases.* Pub. Czech. Acad. Sci. Prague. 1965. P. 193.
- Grešiková M. and Calisher C. H. // *The arboviruses: epidemiology and ecology.* Vol. IVol. FLA: CRC Press. Boca Raton. 1988. P. 177.
- Grešiková M., Kaluzová M. // *Acta virologica.* 1997. 41. P. 115.
- Grešiková M., Kožuch O., Rehaček J. et al. // *Vet. časopis.* 1962. Vol. 11, No. 3. P. 535.
- Grešiková M., Nosek J., Rehaček J., Albrecht P. // *Ж. гиг., эпидемиол., микробиол. иммунол.* 1962a. Vol. 6, No. 3. С. 261.
- Grešiková M., Rehaček J. // *Arch. Ges. Virusforschung.* 1959. Vol. 9. P. 360.

- Gringschl G., Richling E. // *Giorn. Mal. Infect. Press.* 1957. 9. P. 3.
- Gritsun T.S., Lashkevich Vol. A., Gould E. A. // *Antiviral Research.* 2003. Vol. 57. P. 129.
- Grulich I. // *Symposium theriologicum.* Brno. 1960. P. 141.
- Haglund M., Günter G. // *Vaccine.* 2003. Suppl. 1. P. 11.
- Hannoun C. // *Med. Trop.* 1980. 40. P. 509.
- Heigl Z., von Zeipel G. // *Acta path. Microbial. Scandinavica.* 1966. Vol. 66. P. 489.
- Heinz F.X. // *Vaccine.* 2003. 21, Suppl. 1. P. 3.
- Hemmer C., Littmann M., Lafrens M. et al. // *EID.* 2005. Vol. 11. P. 633.
- Holzmann H., Aberle S. Vol., Styasny K. et al., // *EID.* 2009. Vol. 15. P. 1671.
- Holzmann H., Stiasny K., Ecker M., Kunz F. // *J. Gen. Virol.* 1997. Vol. 78. P. 31.
- Holzmann H., Vorobyova M. S., Ladyzhenskaya I. P. et al. // *Vaccine.* 1992. 10. P. 345.
- Hubálek Z., Halouzka J. // *Arthropod-borne Viruses of Vertebrates in Europe.* IL Ecology. Brno. 1996. 95 pp.
- Jääskeläinen A. E., Sironen T., Murueva G. B. et al. // *J. General Virol.* 2010. Vol. 91. P. 2706.
- Jääskeläinen A. E., Tikkakoski T., Uzcátegui N. Y. et al. // *EID.* 2006. Vol. 12, No. 10. P. 1568.
- Jones L. D., Gaunt M., Hails R. S. et al. // *Med. Vet. Entomol.* 1997. Vol. 11. P. 172.
- Kaiser R. // // *Intern. J. Med. Microbiol.* 2002. Vol. 291, Suppl. 33. P. 58.
- Karaban I., Vedenkov A., Yashkova S., Sebut N. // *EpiNorth.* 2009. No. 10. P. 48.
- Kerbo N., Donchenko I., Kutsar K., Vasilenko Vol. // *Eurosurveillance.* 2005. No. 10. P. 2.
- Kim S. Y., Yun S. M., Han M. G. et al. // *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008. No. 8. P. 7.
- Kohl I., Kožuch O., Elecková E. et al. // *Eur. J. Epidemiol.* 1996. No. 12. P. 373.
- Korenberg E. I. // *Folia parasitologica.* 1976. Vol. 23, 4. P. 357.
- Korenberg E. I. // *Soviet Scientific Reviews. F. Physiology. Genetics. Biology.* Herwood. 1989. Academic Publishers GmbH. Vol. 3. P. 301.
- Korenberg E. I. // *Vector Ecology Newsletter.* 1997. No. 28 (4). P. 3.
- Korenberg E. I. // *Experiment. Appl. Acarol.* 2000. Vol. 24. P. 685.
- Korenberg E. I. // *Advances in Virus Research.* Academic Press. Burlington. 2009. Vol. 74. P. 123.
- Korenberg E. I., Černý Vol., Daniel M. // *Folia parasitologica.* 1984. Vol. 31, No. 4. P. 365.
- Korenberg E. I., Gorban» L. Ya., Kovalevskii Yu. Vol. et al. // *EID.* 2001. Vol. 7, No. 3. P. 459.
- Korenberg E. I., Gorelova N. B., Kovalevskii Yu. Vol. // *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control.* CAB International, Oxford, 2002a. P. 175.
- Korenberg E. I., Horakova M., Kovalevskii Yu. Vol. et al. // *Folia Parasitol.* 1992. Vol. 39. P. 85.
- Korenberg, E.I. and Kovalevskii Yu. Vol. // *Advances in Disease Vector Research.* 1994. Springer-Verlag, New York. Vol. 10. P. 65.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. Vol. // *Folia Parasitologica.* 1995. Vol. 42, No. 4. P. 307.
- Korenberg, E.I. and Kovalevskii Yu. Vol. // *The Second International Conference on Tick-Borne Pathogens at the Host-Vector Interface: A Global Perspective. Proceedings and Abstracts.* United Litho, South Africa. 1998. Vol. 1. P. 189.
- Korenberg E. I. and Kovalevskii Yu. Vol. // *Zbl. Bact.* 1999. No. 289. P. 525.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. Vol., Gorelova N. B. // *Intern. J. Med. Microbiol.* 2002. Vol. 291, Suppl. 33. P. 202.
- Korenberg E. I., Nefedova Vol. Vol., Fadeeva I. A., Gorelova N. B. // *Molecular Biology of Spirochetes.* IOS Press. Amsterdam, Berlin, Oxford, Tokyo, Washington. 2006. p. 174.
- Kovalev S. Y., Kokorev Vol. S., Belyaeva I. Vol. // *J. General Virol.* 2010. 91. P. 1.
- Kožuch O., Chumikhin S. P., Grešiková M. et al. // *Acta virologica.* 1981. Vol. 25. P. 219.
- Kožuch O., Grulich I., Nosek J. // *Acta virologica.* 1966. Vol. 10, No. 6. P. 557.
- Kožuch O., Grulich I., Nosek J., Albrecht P. // *Acta virologica.* 1966. Vol. 10, No. 1. P. 84.
- Kožuch O., Mayer Vol., Nosek J. // *Acta virologica.* 1970. Vol. 14. P. 53.
- Kožuch O., Nosek J. // *Acta virologica.* 1964. Vol. 8, No. 3. P. 284.
- Kožuch O., Nosek J., Ernek E. et al. // *Acta virologica.* 1963. Vol. 7, No. 5, P. 430.
- Kožuch O., Nosek J., Lichard M. // *Zbl. Bact., Parasit. Inf. Hyg.* 1966. Vol. 199. P. 152.
- Kožuch O., Nosek J., Lichard M. et al. // *Acta virologica.* 1967. Vol. 11, No. 5, P. 464.
- Kräusler J. // *Tick-borne encephalitis.* Facultas. Vienna. 1981. P. 6.

- Krech T. // J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 291. (Sup. 33). P. 30.
- Kříž B., Beneš Č., Daniel M. // Epidemiol., Microbiol., Immunol. 2009. Vol. 58. P. 98.
- Kucheruk Vol. Vol. // Proceedings of the 3-rd International Congress of Acarology. Prague. 1971. P. 583.
- Kunz C. // Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger. 1969. Thieme-Verlag. Stuttgart. Bd. 2. P. 1595.
- Kunz Ch. // Acta Leidensia. 1992. 60. No. 2. P. 1.
- Kupča A. M., Essbauer S., Zoeller G. et al. // TTB. 2010. Vol. 1. P. 44.
- Labuda M., Austyn J. M., Zuffova E. et al. // Virology. 1996. Vol. 219. P. 357.
- Labuda M., Daniellova Vol., Jones L. D. and Nuttall P. A. // Med. Vet. Entomol. 1993. 7. P. 339.
- Labuda M., Elečková E., Ličková M., Sabó A. // J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 291 (S33). P. 43.
- Labuda M., Jones L. D., Williams T. et al. // J. Med. Entomol. 1993a. Vol.30. P. 295.
- Labuda M., Jones L. D., Williams T. and Nuttall P. // Med. Vet. Entomol. 1993b. 7. P. 193.
- Labuda M., Kozuch O., Zuffova E. et al. // Virology. 1997. Vol. 235. P. 138.
- Labuda M., Nuttall P. A., Kozuch O. et al. // Experientia. 1993c. Vol. 49. P. 802.
- Lesnicer G., Poljak M., Seme K. et al. // Pediatr. Infect. Dis. J. 2000. Vol. 22. P. 612.
- Libířková H. // Virus der Zeckenencephalitis. SAVol. Bratislava. 1969. 339 p.
- Libířková H., Rehaček J., Mayer Vol. et al. // 1964. J. HEMI. Vol. 8. P. 77.
- Lindgren E., Jaenson T. G. T. // Report No. EUR/04/5046250. P. 5.
- Lindgren E., Tälleklint L., Polfeldt T. // Environ. Health Perspect. 2000. Vol. 108. P. 119.
- Logar M., Arnez M., Kolbl et al. // Infection. 2000. Vol. 28. P. 74.
- Lukan M., Bullova E., Petko B. // EID. 2010. Vol. 16, No. 3. P. 524.
- Malkova D., Smetana A., Fiescher J., Marhoul Z. // Acta virologica. 1965. Vol. 9, No. 4. P. 367.
- Mansfield K. L., Johnson N., Philipps L. P. et al. // J. Gen. Virology. 2009. 90. P. 1781.
- Materna L., Daniel M., Metelka L., Harčarik J. // Int. J. Med. Microbiol. 2008. Vol. 298 (Sup.1). P. 25.
- Matuszczyk I., Tarnowska H., Zabicka J., Gut W. // Przegl. Epidemiol. 1997. Vol. 51 P. 381.
- Moritsch H., Krausler J. // Wiener klin. Wschr. 1957. 69. P. 921.
- Moritsch H., Krausler J. // Dtsch. Med. Wschr. 1959. 84. P.1934.
- Nosek J., Grešířková M., Rehaček J. et al. // Ж. гиг., эпидемиол., микробиол. и иммунол. 1962. Vol. 6, No. 3. C. 264.
- Nosek J., Kozuch O., Ernek E., Lichard M. // Zbl. Bact. 1967. 1 Abl. Orig. Vol. 2003. P. 162.
- Nosek, J., Kozuch O. and Grulich I. // Oecologia. 1970. Vol. 5. P. 61
- Nuttall P. // Oxford Textbook of Zoonoses. Biology, Clinical Practice, and Public Health Control. University Press. Oxford. 2011. P. 432.
- Nuttall P. A. and Labuda M. // AdVol. Virus Res. 2003. Vol. 60. P. 233.
- Nuttall P. A. and Labuda M. // Tick-Borne Diseases of Humans. ASM Press. Washington. 2005. P. 150.
- Oschmann P., Kraiczy P., Halperin J., Brade Vol. (Eds.) // Lyme Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis. Uni-Med. Bremen. 1999. 144 p.
- Poponnikova T. Vol. // Intern. J. Med. Microbiol. 2006. Vol. 296, Suppl. 1. P. 59.
- Poponnikova T. Vol. // Intern. J. Med. Microbiol. 2008. Vol. 298, Suppl. 1. P. 351.
- Pretzmann G. // Zeitschr. Arbeitsgemein. Osterr. Entomol. 1966. Vol. 18. P. 35.
- Pretzmann G., Loew I., Radda A. // Zbl. Bact. Paras. Inf. und Hyg. 1963. Orig. 190. P. 299.
- Pretzmann G., Radda A., Loew I. // Zbl. Ökol. Tiere. 1964. Vol. 54. P. 393.
- Radda A. C. // Geographische Zeitschrift. Wiesbaden. 1974. Heft 35. P. 62.
- Randolph S. E. // AdVol. in Parasitol. 2000. Vol. 47. P. 217.
- Randolph S. E. // Parasitology. 2004. Vol. 129. P. 37.
- Randolph S. E. // Int. J. Med. Microbiol. 2004a. Vol. 293. P. 5.
- Randolph S. E. // Microbes and Infection. 2008. Vol. 10. P. 209.
- Randolph S. E. // ReVol. Scient. Techn. 2008a. Vol. 27, No. 2. P. 367.
- Randolph S. E. // Vet. Parasitol. 2010. Vol. 167. No. 3-4. P. 92.
- Randolph S. E. // Ticks and Tick-borne Diseases. 2011. 2. P. 179.
- Randolph S. E., Gern L., and Nuttall P. A. // Parasitology Today. 1996. Vol. 12. P. 472.
- Randolph S. E., Miklišová D., Lysin J. et al. // Parasitology. 1999. Vol. 118. P. 177.

- Randolph S. E., Rogers D. J. // Proc. R. Soc. Lond. B. 2000. Vol. 267. P. 1741.
- Rehaček J. // Acta virologica. 1960. Vol. 4, No. 2. P. 106.
- Rehaček J. // Acta virologica. 1962. Vol. 6, No. 3. P. 220.
- Rehaček J., Grešíková M., Nosek J., Albrecht P. // Ж. гиг., эпидемиол., микробиол. и иммунол. 1963. Т. 7, No. 2. С. 144.
- Rehse-Küpper B., Danielova Vol., Klenk W. et al. // Münch. Med. Wschr. 1976. 118. P. 1615.
- Riedl H., Sixl W., Nosek J. // Z. Ges. Hyg. 1973. 19. P. 733.
- Rosický B., Daniel M. a kol. // Lékařská entomologie a životní prostředí. Academia. Praha. 1989. 437 p.
- Rostasy K. // Wien Med. Wochenschr. 2012. Vol. 162. P. 244.
- Saikku P. // Med. Biol. 1975. 53. P. 317.
- Skarpaas T., Golovljova I., Vene S. // EID. 2006. Vol. 12. P. 1136.
- Smith C. E. C. // Symposia Zool. Soc. of London. 1962. P. 199.
- Sonenshine D. E. and Mather T. N. // Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses. Oxford UniVol. Press. New York, Oxford. 1994. 447 p.
- Sumilo D., Asokilene L., Barmene A. et al. // PloS ONE. 2007. Issue 6. e500. P. 1.
- Šumilo D., Bormane A., Vasilenko L. et al. // ReVol. Med. Virol. 2008. Vol. 18. P. 81.
- Süss J. // Vaccine. 2003. Vol. 21, Suppl. 1. P. 19.
- Süss J. // Ticks and Tick-borne Diseases. 2011. 2. P. 2.
- Süss J., Klaus C., Gerstengarbe F. W., Werner P. // J. Travel Med. 2008. P. 39.
- Takashima I. // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 1998. Vol. 21. P. 81.
- Takashima I., Morita K., Chiba M. et al. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35, No. 8. P. 1943.
- Telford III S.R., Foppa I. M. // Tickborne Infectious Diseases. Diagnosis and Management. Marcel Dekker, Inc. New York. Basel. 2000. P. 193.
- Ternovoi Vol. F., Protopopova E. Vol., Chaousov E. Vol. et al. // VBZD. 2007. 13 (10) P. 1574.
- Tick-Borne Encephalitis (TBE) and its Immunoprophylaxis. Vienna. Immuno. 1997. 29 pp.
- Tokarevich N. K., Tronin A. A., Blinova O. Vol. // Global Health Action. 2011. Vol. 4. P. 8448.
- Tongern van H.A.E. // Arch. Ges. Virusforsch. 1955. Vol. 6. P. 158.
- Tupikova. N. Vol., Korenberg E. I. // The Theoretical Questions of Natural Foci of Diseases. Publ. Hauus Czech. Acad. Sci. Prague. 1965. P. 319.
- Uspensky I., Kovalevskii Yu. Vol., Korenberg E. I. // Experim. Appl. Acarol. 2006. Vol. 38 (2–3). P. 201.
- Varma M. G.R. and Smith C.E.G. // Folia parasitol. 1971. Vol. 18, No. 1. P. 63.
- Vaisviliene D. // Proc. 4th Int. Potsdam Symp. Pabst Science Publishers. Lengerich. 1997. P. 100.
- Verani P., Ciufolini M., Nicoletti L. et al. // Tick-Borne Encephalitis. Internat. Symp. Baden/Vienna, 1979. Facultas-Verlag. Wien. 1981. P. 265.
- Wahlberg P., Saikku P., Brummer-Korvencontio M. // J. Intern. Med. 1989. Vol. 225. P. 173.
- Yun S. M., Kim S. Y., Han M. G. et al. // Vector Borne Zoonotic Dis. 2009. 9. P. 287.
- Yousfi-Monod, R. and Aeschlimann, A. // Ann. Parasitol. Humane Comparé. 1986. Vol. 61. P. 341.
- Zanotto P.M. de A., Gao G. F., Gritsum T. et al. // Virology. 1995. Vol. 210. P. 152.

3. Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ)

В первые же годы изучения ИКБ в нашей стране было показано, что их распространение и эпидемиология весьма сходны с таковой при КЭ, поскольку переносчики, а также причины, формы и интенсивность контакта населения с природными очагами этих инфекций практически тождественны (Коренберг и др., 1991; Korenberg, 1994, 1995; Наумов, 1999). Вместе с тем структура паразитарных систем (природных очагов), этиология и клинические проявления боррелиозов, передающихся иксодовыми клещами в Евразии, существенно отличаются от распространенной в США «классической» болезни Лайма, которой уже посвящена не одна тысяча публикаций, десятки монографий, тематических сборников и обзоров. Мы постараемся обратить внимание на эти отличия в соответствующих местах данного раздела, задача которого — не капитальный монографический обзор проблемы ИКБ в мире, а изложение (по возможности не слишком пространное) состояния ее изученности в России к настоящему времени. Сходство переносчиков дает возможность не повторять изложение основных черт их жизненного цикла и экологии (см. раздел 2), принципиально важных для эпизоотологии и эпидемиологии ИКБ.

3.1. Определение. Название группы нозологических форм.

Краткая историческая справка

Определение. Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) — это группа этиологически самостоятельных хронических или рецидивирующих спирохетозных природно-очаговых трансмиссивных инфекций, возбудители которых передаются иксодовыми клещами, способных поражать различные системы органов (центральную нервную, сердечно-сосудистую, кожу, опорно-двигательный аппарат).

Название группы нозологических форм. Сравнительно недавнее начало изучения спирохетозов этой группы, быстрое появление новых фактов, принципиально меняющих представления об их этиологии и распространении, сочетающееся со значительным отставанием адекватного отражения научных сведений в официальных

документах по номенклатуре заболеваний, а также в некоторых руководствах и учебно-методической литературе, стали причинами неустоявшегося названия для боррелиозов, выявленных в России. Так, в первых в нашей стране методических рекомендациях по этим заболеваниям (Крючечников и др., 1987) они названы «системным клещевым боррелиозом» или (в скобках) болезнью Лайма. Этот документ по существу имел характер информационного письма и был утвержден Минздравом РСФСР в 1987 г., когда название «болезнь Лайма» во всех странах только завоевывало право на существование, а многие ее характерные клинические проявления уже были давно описаны под разными наименованиями как самостоятельные заболевания или синдромы неясной этиологии. Слово «системный», включенное в это название по настоянию клиницистов, подчеркивало представления о характерной для клещевых боррелиозов частоте различных органных поражений. Этот документ нашел отражение в некоторых сводках того времени, например в учебнике по инфекционным болезням для студентов медицинских институтов (Шувалова, 1990), а словосочетание «системный клещевой боррелиоз» еще продолжают употреблять в некоторых публикациях и даже в отдельных совсем недавних руководствах.

Между тем к началу 90-х годов стало очевидно, что боррелиозы, передающиеся иксодовыми клещами, далеко не всегда сопровождаются одновременным поражением различных систем и органов, а значительно чаще, особенно в нашей стране, протекают в более легкой форме. Единственным известным возбудителем этих заболеваний, которые по действовавшей тогда «Международной номенклатуре болезней» получили унифицированное единое наименование *Lyme disease* (болезнь Лайма), оставалась *B. burgdorferi*. Поэтому в 1991 г. Минздравом СССР были утверждены «Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма», подготовленные группой авторов под общей редакцией Э.И. Коренберга и В.А. Насоновой. В вводной части этого документа подчеркнуто, что по указанным выше причинам «название «системный клещевой боррелиоз», появившееся в отечественной литературе, не может быть рекомендовано для дальнейшего употребления, хотя оно достаточно точно отражает этиологию и патогенетические особенности заболевания». В учебниках, руководствах и справочниках этого периода по инфекционным болезням и эпидемиологии описана болезнь Лайма (БЛ) или Лайм-боррелиоз. (Беляков, Яфаев, 1989; Покровский, 1993; Черкасский, 1994; Лесняк, 1999).

Однако еще раньше, после изоляции первых на территории СССР культур боррелий и их идентификации моноклональными антителами (Крючечников и др., 1988, 1990), исходя из ряда микробиологических и эколого-паразитологических данных в отечественной (Коренберг и др., 1990; Барбур, Коренберг, 1991), а затем и в международной печати (Korenberg et al., 1993) было высказано предположение, что названием БЛ в действительности обозначается целая группа этиологически самостоятельных заболеваний, но убедительных тому доказательств еще не было. Поэтому в официальную форму статистической отчетности по инфекционным заболеваниям в 1992 г. по нашей инициативе было включено компромиссное название «клещевые боррелиозы (болезнь Лайма)», которое до настоящего времени

остается в этом документе. Между тем наше предположение полностью подтвердилось уже в том же году: исследования изолятов возбудителя так называемой БЛ из разных стран, включая наши российские изоляты, показали, что они представляют собой три самостоятельные геновида. Кроме *B. burgdorferi sensu stricto* были описаны патогенные для человека *B. garinii* и группа VS 461, получившая в дальнейшем название *B. afzelii* (Baranton et al., 1992; Canica et al., 1993). К настоящему времени все эти и другие виды боррелий обнаружены в России (раздел 3.2). Установлено также, что этиологию и эпидемиологию боррелиозов, связанных с иксодовыми клещами, в нашей стране определяют отсутствующие в США *B. garinii* и *B. afzelii*, а возбудитель широко известной в Америке БЛ — *B. burgdorferi sensu stricto* — встречается у нас достаточно редко и, по всей видимости, имеет весьма ограниченное распространение (см. ниже). Стало ясно, что в подавляющем большинстве случаев нет никаких оснований называть заболевания боррелиозной этиологии, заражения которыми происходят в России, БЛ. Вместе с тем нозологические формы, вызываемые *B. garinii* и *B. afzelii*, еще не получили самостоятельные названия, да и методы дифференциации боррелиозов, доступные для широкой клинической практики, пока недостаточно разработаны. Поэтому всю группу этиологически самостоятельных боррелиозов, передающихся иксодовыми клещами (инфекции группы болезни Лайма), было предложено называть иксодовыми клещевыми боррелиозами [ИКБ] (Коренберг, 1993). Показано, что они по ряду принципиальных признаков существенно отличаются от группы аргасовых клещевых боррелиозов (АКБ), возбудители которых передаются различными видами клещей рода *Ornithodoros* (Коренберг, 1996, 1996 а, 1996 б; Коренберг, Крючечников, 1996; Korenberg, 1998). Эта терминология не противоречит «Международной классификации болезней...» (МКБ-10), в которой, кроме болезни Лайма (пункт А 69.2), предусматривается наличие «других уточненных спирохетозных инфекций» (А 69.8) и даже «спирохетозная инфекция неуточненная» (А 69.9). Она нашла отражение в документах ВОЗ (Korenberg, 1995), в ряде последовавших обзоров (Воробьева, 1998; Лобзин и др., 2000; Оберт и др., 2000, 2001; Коренберг, 2002, 2002а) и инструктивно-методических документах (Лобзин и др., 2000, 2007). Тем не менее многие практические и некоторые научные работники нашей страны продолжают употреблять название «болезнь Лайма» («Lyme disease») или «Лайм-боррелиоз» («Lyme borreliosis»), что представляется некорректным и требует внесения соответствующих коррективов в общегосударственные официальные документы и форму статистической отчетности по инфекционным заболеваниям. Показательно в этой связи, что еще в 2003 г. в руководстве для врачей, опубликованном под эгидой президента РАМН В. И. Покровского, Главного государственного санитарного врача РФ Г. Г. Онищенко и академика РАМН Б. Л. Черкасского, данная группа инфекционных заболеваний описана под названием «иксодовые клещевые боррелиозы».

Краткая историческая справка. История ИКБ началась с описания их разнообразных клинических проявлений, этиология которых долго оставалась неиз-

вестной. Еще в 1883 г. Buchwald впервые описал в Европе своеобразное поражение кожи, названное почти через 10 лет хроническим атрофическим акродерматитом. Шведский дерматолог А. Афзелиус (A. Afzelius, 1907, 1910), с работами которого некоторые европейские исследователи настойчиво связывали начало выявления разнообразных клинических проявлений этих заболеваний, назвал хронической мигрирующей эритемой (*erythema chronicum migrans*) постепенно увеличивающееся в размерах поражение кожи, которое возникает у пациентов на месте прикрепления клеща. В 1911 г. Burckhardt описал проявление заболевания, ныне известного как лимфоцитомы. В 20-х–30-х годах прошлого века Garin, Buajdoux во Франции, Lipschütz в Австрии и Bannwarth в Германии связали с укусом клеща различные клинические проявления, и в частности нарушения со стороны нервной системы, характерные, как теперь стало ясно, для нейроборрелиоза. Одно из них широко известно как менингополирадикулоневрит Банварта. Hellerström в Швеции даже указал на взаимосвязь между укусом клеща, возникновением мигрирующей эритемы и неврологическими нарушениями. В 1949 г., задолго до открытия этиологии заболевания, Thyresson в Швеции впервые успешно применил пенициллин для лечения хронического атрофического акродерматита. В 1974 г. Weber в Германии логически, методом исключения известных в то время возбудителей, передающихся трансмиссивным путем, пришел к выводу, который еще несколько лет оставался недоказанным, что их возможным этиологическим агентом могут быть боррелии.

Всестороннее изучение ИКБ по сравнению со многими другими инфекциями имеет сравнительно непродолжительную новую историю, если ее исчислять с момента открытия этиологического агента. Она началась во второй половине 70-х годов XX века, когда А. Стир с сотрудниками (Steere et al., 1977, 1977a) в США детально описал клинико-эпидемиологические проявления развивающихся артритов у жителей городка Лайм штата Коннектикут (так называемого Лайм артрита) и высказал предположение об их связи с предварительным возникновением хронических мигрирующих эритем, появляющихся после укусов иксодовых клещей *I. dammini* (современное название — *I. scapularis*). Заболевание получило название «болезнь Лайма». В. Бургдорфер (Burgdorfer et al., 1982) с сотрудниками впервые при микроскопии материала из кишечника этих клещей обнаружил спирохету и уже в следующем году вместе с А. Варбуаг изолировал их на специальной жидкой питательной среде. Такие же спирохеты были затем выделены в США и Европе из крови, кожи и спинно-мозговой жидкости больных, у которых обнаруживали антитела IgM и IgG против этого микроорганизма. Р. Джонсон (Johnson et al., 1984) показал, что возбудитель БЛ представляет собой неизвестный ранее вид рода *Borrelia*, и в честь первооткрывателя назвал его *Borrelia burgdorferi* sp. nov. Таким образом, этиология давно известного заболевания была, наконец, установлена. Эти события и последующие вехи истории изучения БЛ в США и Европе подробно изложены в нескольких публикациях (Burgdorfer, 1984; Johnson, 1998a; Steere, 2001; Stanek et al., 2002).

Открытие возбудителя болезни Лайма — это, несомненно, одно из самых ярких событий медицинской микробиологии, инфекционной патологии и парази-

тологии последней четверти прошлого столетия. Трудно, а скорее всего, невозможно, найти другое заболевание, широко распространенное по всему северному полушарию, различные клинические проявления которого на протяжении почти сотни лет неоднократно описывали врачи России, Швеции, Германии, Франции, Австрии, США и других стран, а возбудитель оставался неизвестным до 1980-х годов. Самое поразительное состоит, пожалуй, в том, что возбудителем заболевания оказался не какой-то трудно обнаруживаемый агент, а достаточно крупная и подвижная спирохета. Увидеть ее без каких-либо особых ухищрений позволяет обычный световой микроскоп. Ее переносчики, как оказалось, — широко распространенные иксодовые клещи, причем выяснилось, что до половины из них, а местами и больше, в естественных условиях содержат боррелий. Чтобы их обнаружить, нужно было только просмотреть под микроскопом витальные препараты, содержащие материал из кишечника клещей. Именно это сделал американский микробиолог Вилли Бургдорфер, именем которого вскоре был назван новый для науки вид бактерий, вызывающих болезнь Лайма. Между тем многие десятки тысяч клещей прошли до этого через руки исследователей различных стран. В Евразии, например, где, как было установлено, основные переносчики боррелий — те же виды клещей, что и при КЭ, десятки исследователей, занимаясь многие годы природной очаговостью этого заболевания (раздел 2), имели дело с этими членистоногими, но никто не пытался искать в них спирохет. Сделать открытие, которое, казалось бы, лежало на поверхности, мешало глубоко укоренившееся представление о том, что возбудители боррелиозов экологически и географически связаны только с аргасовыми клещами и вызывают АКБ (классический пример — так называемый клещевой возвратный тиф или клещевой спирохетоз), а иксодовые клещи не имеют к боррелиозам человека никакого отношения.

Характерные поражения кожи, известные теперь как хронический атрофирующий акродерматит, свойственный поздним проявлениям ИКБ, были описаны в России несколькими дерматологами (Никольский, 1896; Мещерский, 1898; Письменный, 1902; Поспелов, 1905, 1906) под разными названиями (самостоятельная атрофия кожи, *atrophia cutis maculata*, идиопатическая приобретенная атрофия кожи) еще в конце XIX–начале XX столетий, начиная с 1896 г. Эти публикации появились раньше, чем исходное описание раннего кожного проявления заболевания — хронической мигрирующей эритемы (A. Afzelius, 1907, 1910). В 1958 г. клинике хронического атрофического акродерматита в Ленинградской области было посвящено специальное диссертационное исследование Н. Д. Лисовской. С 40-х годов невропатологи обращали внимание на заболевания, возникающие после укуса иксодовых клещей, сопровождающиеся обширными «клещевыми» или «клещевыми кольцевидными» (как их тогда называли) эритемами и различными неврологическими нарушениями при отсутствии серологических подтверждений их принадлежности к клещевому энцефалиту. Такие случаи были выявлены в центральных областях Европейской части страны (Деконенко и др., 1985, 1986), в Ленинградской (Шаповал и др., 1993), Пермской (Первушин, 1943; Самович, 1950; Киселева, 1967;

Юденкова, 1977), Свердловской, (Магазаник, Погодина, 1960), Тюменской (Дубов, 1959), Томской (Шубин, 1946; Целищев, 1949), Кемеровской (Коваленко, 1969) областях и Приморском крае (Панов, 1956) и др. В Свердловской области, например, в 1957–1959 гг. группа больных с эритемами составляла 2,3% от общей заболеваемости КЭ, в Томской области в 1960 г. «клещевая эритема» была отмечена у 11% больных, прошедших под диагнозом «клещевой энцефалит», а в Пермской она ежегодно наблюдалась у 3–15% таких пациентов (Юденкова, 1977). Высказывались мнения, что эти заболевания представляют собой так называемую эритематозную форму КЭ. В Красноярском крае они регистрировались под таким диагнозом с 1951 г. (Шетекаури и др., 2005). Однако некоторые исследователи (Е. П. Деконенко, Т. С. Киселева, В. Н. Коваленко, Р. И. Кузнецова, И. А. Селютина, Ю. К. Смирнов, К. Г. Уманский, А. Н. Шаповал, Т. И. Юденкова), дифференцировали такие случаи от КЭ и задолго до открытия возбудителей ИКБ высказывали справедливые предположения об их этиологической самостоятельности. Так, в Удмуртии при комиссионной проверке диагностических заключений диагноз КЭ в 1965–1966 гг. был подтвержден только в 61–62% случаев, а почти в 130 было подтверждено лихорадочное заболевание неясной природы. А. Н. Шаповал и др. (1969, С. 36) по этому поводу сделали заключение, «...что среди этой группы заболеваний могут быть совершенно новые не только для Удмуртской АССР, но для науки вообще. Изучение природы этой группы заболеваний следует считать одной из первоочередных задач органов здравоохранения». Четкие описания общей клинической картины заболеваний и кольцевидных эритем, возникавших после укуса клеща, чрезвычайно характерных для начального периода ИКБ, полученные в эти годы по наблюдениям за больными в северо-западной части России и долгое время оставшиеся неопубликованными (Шаповал и др., 1993), дают основание с большой уверенностью предполагать, что именно ИКБ имел место по крайней мере в значительной части описанных случаев. В Ленинградской областной инфекционной больнице таким пациентам многие годы ставили диагноз «клещевая эритема», подчеркивая, что она представляет собой своеобразное сезонное заболевание, этиология которого остается неясной (Кузнецова и др., 1967). Это позволило в самом начале исследований по проблеме боррелиозов провести ретроспективное клинико-серологическое обследование этих заболеваний, способствовавшее доказательству наличия ИКБ в нашей стране (см. ниже).

Целенаправленные исследования в этом направлении были начаты лабораторией переносчиков инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи РАМН в 1984 г. (Коренберг, 2003) сразу после установления в США, что ее этиологический агент — это новый вид боррелий (см. выше) и обнаружения соответствующих спирохет у клеща *Ixodes ricinus* в Европе (Barbour et al., 1983; Burgdorfer et al., 1983) с анализа объективных предпосылок возможности существования ИКБ на территории бывшего СССР (Korenberg et al., 1986) и подготовки первого в отечественной научной литературе всестороннего обзора состояния проблемы (Крючечников, 1985). Одновременно невропатологи Института по-

лиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН Е. П. Деконенко и др. (1986) обратили внимание на сходство клинико-эпидемиологических черт клещевой эритемы в нашей стране с проявлениями болезни Лайма в США и Западной Европе.

Культивирование полученного из США типового американского изолята боррелий В31, который, как было установлено значительно позднее (Baranton et al., 1992), представляет собой *B. burgdorferi sensu stricto*, позволило получить в лаборатории переносчиков инфекций корпускулярный антиген. Он был использован в непрямой реакции иммунофлюоресценции (нРИФ), и начаты исследования сывороток реконвалесцентов по методике, разработанной В. Н. Крючичниковым и др. (1985) применительно к АКБ. Таким путем в 1985 г. ИКБ были впервые серологически верифицированы у пациентов из различных административных областей России (Коренберг и др., 1986). С конца 80-х годов для приготовления корпускулярного антигена используется отечественный изолят Ip-21 геновида *B. afzelii*. Приготовленный из него стандартный диагностический препарат для нРИФ широко применялся в научных и практических целях в России и в ряде соседних стран (Коренберг и др., 1987а, 1990а; Мотеюнас и др., 1989; Пиценко и др., 1989; Ангелов и др., 1990; Ананьева и др., 1990; Волегова и др., 1993; Коренберг, 1993, 1993а; Матущенко и др., 1993; Трофимов и др. 1998), что имело решающее значение для выявления широты распространения ИКБ и значения боррелиозов в инфекционной патологии (Коренберг и др., 2000). К концу 1991 г. ИКБ были выявлены в 25, к концу 1992 г. — уже в 40, к 1994 г. — в 46 крупных административных территориях (Korenberg, 1995).

В связи с прежними описаниями случаев «клещевой кольцевидной эритемы» в Ленинградской области (см. выше) в конце 1985 г. были проанализированы около 190 историй болезни и эпидкарт на больных с этим диагнозом, находившихся в 1983–1985 гг. на излечении в Ленинградской областной инфекционной больнице и в Ленинградской городской клинической больнице им. С. П. Боткина. В 70 случаях сделан ретроспективный вывод о том, что пациенты перенесли ИКБ, причем в дальнейшем у некоторых реконвалесцентов этот диагноз был подтвержден серологически. В весенне-летний период 1986 г. сотрудниками НИИ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН в комплексе с Ленинградской областной и городской санэпидстанциями осуществлен поиск природных очагов и переносчиков ИКБ прежде всего на территории Кировского района области, где по предварительным данным происходило наибольшее число заражений, а также проведено более широкое серологическое обследование больных с первичным диагнозом «клещевая кольцевидная эритема», заражения которых происходили в различных районах области и в городских лесопарках. В результате впервые в стране, в Северо-Западном регионе, были выявлены активные природные очаги ИКБ, в которых переносчиками боррелий оказались клещи *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus*, причем подобная роль *I. persulcatus* была также продемонстрирована впервые (Коренберг и др., 1987, 1988).

Одновременно с этими событиями в 1985 г. случаи ИКБ были серологически подтверждены в Хабаровском крае, а в 1996 г. здесь выявлены природные очаги

с относительно высоким уровнем зараженности клещей *I. persulcatus* боррелиями (Коренберг и др., 1989). Кроме того, в эти же годы антитела к боррелиям обнаружены у больных из Калининской, Московской, Ярославской, Костромской областей и Башкирии. Совокупность клинико-серологических и паразитологических данных, полученных в первые два года изучения ИКБ, позволила сделать следующие выводы, полностью подтвердившиеся в ходе дальнейших исследований: распространение этих боррелиозов в нашей стране сходно с распространением КЭ; основной переносчик боррелий на большей части ареала — клещ *I. persulcatus*; клещ *I. ricinus* может быть переносчиком боррелий в Европейской части страны, причем в тех районах, где он распространен симпатрично с *I. persulcatus*, как и при КЭ, существуют природные очаги с двумя видами переносчиков (Коренберг и др., 1987а).

В 1986–1992 гг. всестороннее изучение ИКБ в Ленинградской области было осуществлено под руководством Э.И. Коренберга экспедицией сотрудников НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН (Ю.В. Ковалевский, В.Н. Крючечников, М.Л. Левин, М.И. Калинин, Н.Б. Горелова, С.В. Щербаков и др.). В 1987–1990 гг. эта работа проводилась в соответствии со специальной «Программой комплексных исследований по диагностике, клинике, эпидемиологии и профилактике болезни Лайма в Ленинградской области», которая была утверждена заместителем здравоохранения РСФСР К.И. Акуловым 2 марта 1987 г. В ее реализации на разных этапах участвовали сотрудники Ленинградской областной (Р.И. Кузнецова, А.А. Чурилова, З.Е. Василенко, П.Е. Золотов), городской (Л.П. Антыкова, М.Я. Сергеева, Т.О. Смыслова, С.С. Ковтуненко, Л.В. Пызина) и Кировской районной (Л.М. Солдаткина) санэпидстанций, врачи Ленинградской областной инфекционной больницы (Б.Д. Мебель, Г.А. Бейтришвили, М.Б. Живич) и сотрудники Института ревматологии РАМН Л.П. Ананьева и И.А. Скрипникова.

Этими исследованиями было окончательно доказано, что существование природных очагов ИКБ связано с клещами *I. persulcatus* и *I. ricinus*, причем *I. persulcatus* как переносчик более эффективен, чем *I. ricinus* (Коренберг и др., 1988, 1990а; Korenberg et al., 1991, 1993; Коренберг, 1993, 1993а.; Ковалевский и др., 1993). От клещей, грызунов и больных людей получены, идентифицированы и первично охарактеризованы первые отечественные изоляты боррелий (Крючечников и др., 1988, 1990, 1993). Некоторые из них (Ip 3, Ip 21, Ip 89, Ip 90, Ir 210 и др.) использованы исследователями ряда стран при изучении генетической структуры, таксономии и филогении боррелий, включая характеристику геногруппировок боррелий и первоописания самостоятельных геновидов (Baranton et al., 1992; Belfaiza et al., 1993; Fukunaga et al., 1993; Assous et al., 1994; Postic, et al., 1994; Liverus et al., 1995 и др.). На базе лаборатории переносчиков инфекций НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН организован музей боррелий (Э.И. Коренберг), который стал одной из наиболее крупных их мировых коллекций (Горелова, 1993), насчитывающей сейчас уже более 1500 первичных изолятов. Таким образом была создана фундаментальная основа для изучения этиологии ИКБ, таксономии боррелий и их внутривидовой изменчивости. Первыми в нашей стране массовыми клинико-серологическими и скри-

нингово-серологическими исследованиями продемонстрированы возможности и методические приемы лабораторного подтверждения ИКБ в острой и хронической фазах заболевания (Коренберг и др., 1990; Ананьева и др., 1990; Антыкова и др., 1993; Скрипникова и др., 1993). Эти методы стали обычной практикой клинических и санитарно-эпидемиологических учреждений многих областей России в 90-е и 2000-е годы (Коренберг и др., 2000). В сочетании с доступным для научных и практических работников корпускулярным антигеном, приготовлявшимся в лаборатории переносчиков инфекций НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН (Н. Б. Горелова и др.) это позволило постепенно наладить лабораторную диагностику ИКБ в стране и получить данные об уровне заболеваемости этими инфекциями и их значении в инфекционной патологии (Коренберг, 2002а). Были получены первые данные об эпидемиологии ИКБ в нашей стране, включая оценку эпидемической ситуации в условиях крупного города (Коренберг и др., 1991; Антыкова и др., 1993), и на серологически подтвержденных случаях изучен основной спектр клинических проявлений на разных фазах заболевания (Мебель и др., 1988; Ананьева и др., 1993; Скрипникова и др., 1993). Клиника ИКБ была описана в этот период и в некоторых других регионах (Деконенко и др., 1986, 1988, 1989, 1991; Деконенко, Уманский, 1989; Кравчук и др., 1993; Воробьева и др., 1993; Волегова и др., 1993; Лесняк и др., 1993). Отработаны и унифицированы методы микроскопической индикации боррелий в клещах и оценки количественного содержания этих спирохет в одной особи переносчика (Ковалевский и др., 1988, 1990, 1991; Левин и др., 1993), что открыло возможности проводить на единой методической основе выявление природных очагов в различных регионах страны, оценку их лоймопотенциала и мониторинг за его динамикой. Таким образом, в течение 5–7 лет были получены ключевые данные по основным аспектам проблемы ИКБ в России, а также заложен научный и организационный фундамент ее дальнейшего изучения, что нашло отражение в соответствующих «Методических указаниях...» (Коренберг, Насонова, 1991). Примерно с середины 90-х годов различные аспекты изучения ИКБ привлекли внимание многих научных и практических работников в разных регионах страны. Их итог был подведен на первой в России научно-практической конференции по проблемам клещевых боррелиозов (Коренберг, Забродин, 2002).

3.2. Возбудители

*3.2.1. Таксономия и общая характеристика боррелий**

В 1868 г. Obermeier открыл (но опубликовал эти данные только через пять лет) этиологический агент эпидемической возвратной лихорадки, которым оказалась

* Этот и следующий разделы содержат характеристику боррелий, основанную на анализе (Коренберг, Нефедова, 2010) многих специальных публикаций. По техническим причинам в тексте и списке литературы приведены в основном только обзорные работы.

спирохета, получившая позднее в его честь название *Spirocheta obermeieri* и известная теперь как *Borrelia recurrentis*. В конце XIX–начале XX века был описан клещевой рекурренс (клещевой возвратный тиф, спирохетоз, клещевой спирохетоз). Этими названиями до сих пор нередко обозначают ряд клинически сходных, но этиологически самостоятельных заболеваний, возбудители которых обычно передаются аргасовыми клещами рода *Ornithodoros*. Позднее, чтобы отличать эти инфекции от эпидемического возвратного тифа (спирохетоза), передающегося вшами, их назвали «клещевыми боррелиозами». Многие годы во всем мире полагали, что иксодовые клещи не имеют к боррелиозам человека никакого отношения. Открытие возбудителя болезни Лайма заставило пересмотреть эти представления. Дальнейшие исследования показали, что под названием БЛ скрывается целая группа этиологически самостоятельных боррелиозов (раздел. 3.1).

Род *Borrelia* (Swellingrebel, 1907), названный в честь французского микробиолога А. Borrel, относится к порядку *Spirochaetales*, семейству *Spirochaetaceae*, в которое входят еще 6 родов спирохет (*Spirocheta*, *Cristispira*, *Treponema*, *Serpulina*, *Brachyspira*, *Brevinema*), различных по своей биологии и морфологии. Среди спирохет есть как свободноживущие, так и ассоциированные с хозяевами формы; многие из них патогенны для разных животных и человека. По нуклеотидной структуре генома род *Borrelia* близок к трепонемам.

По современным представлениям, которые в целом подтверждают данные секвенирования различных участков генома спирохет рода *Borrelia*, клещевые боррелиозы включают как минимум две отдельные группы инфекционных заболеваний (рис. 3.1): а) давно известные аргасовые клещевые боррелиозы (АКБ), возбудители которых передаются различными видами аргасовых клещей; б) сравнительно недавно открытые иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), передающиеся, главным образом, клещами рода *Ixodes*. Эти группы нозологических форм существенно отличаются друг от друга по уровню заболеваемости, общему харак-

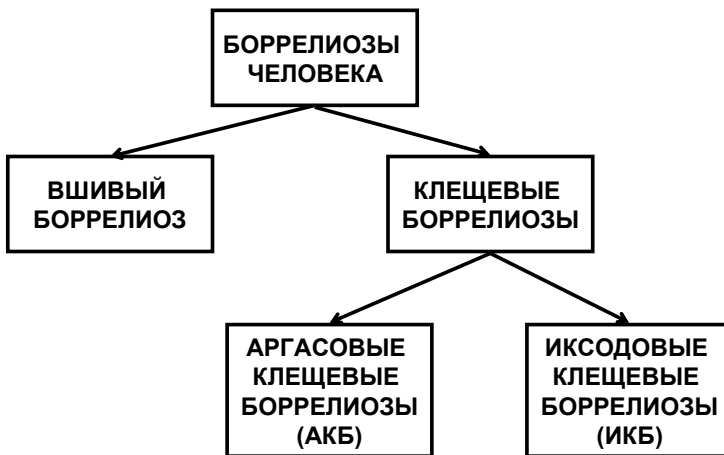


Рис. 3.1. Классификация боррелиозов (Коренберг, Нефедова, 2010)

теру течения инфекционного процесса и частоте полисистемной патологии. Их возбудителям свойственны принципиальные отличия в происхождении и распространении, в видовом составе основных переносчиков и взаимоотношениях с клещами, в структуре генома микроорганизмов и характере их антигенной изменчивости при взаимодействии с иммунной системой позвоночных животных и человека, в способности накапливаться в крови и длительно персистировать в их организме (Коренберг, Крючечников, 1996). Эти отличия, на наш взгляд (Коренберг, 1996), позволяют рассматривать совокупности АКБ и ИКБ боррелий как отдельные таксономические единицы по меньшей мере в ранге двух подродов. Но пока этого не произошло.

Виды рода *Borrelia* морфологически весьма сходны. Как и все спирохеты, они имеют спиральную форму и периплазматические флагеллы, но в отличие от представителей других родов сравнительно легко окрашиваются анилиновыми красителями. Это грамотрицательные бактерии длиной от 8 до 30 мкм и шириной 0,2–0,5 мкм, представляющие собой извитую, лево- или правовращающуюся спираль, способную к активным возвратно-поступательным или вращательным движениям. Их размеры могут изменяться в организме разных хозяев, а также при культивировании. Для боррелий характерна тонкая внешняя мембрана вокруг протоплазматического цилиндра, который включает слой пептидогликана, цитоплазматическую (внутреннюю) мембрану и периплазматическое пространство (рис. 3.2).

Внешняя клеточная мембрана состоит из протеинов, липидов и углеводов. Во внешней мембране практически нет липополисахарида (ЛПС), но присутствуют гликолипиды, составляющие около половины всех липидов. Эта мембрана содержит трансмембранно-стягивающие протеины со сравнительно низкой плотностью. Такая поверхность бактерий способствует их выживанию как в организме млекопитающих, так и клещей, и уклонению от воздействия иммунной системы позвоночных. В периплазматическом пространстве боррелий находятся 7–11 биполярных флагелл (PF), которые одним концом прикреплены к микробной клетке и завернуты вокруг клеточного цилиндра. Их сокращение обеспечивает вращательные движения боррелий (Rosa et al., 2005).

Кроме типичной бактериальной формы боррелий, давно известны многообразные морфологически измененные «формы несбалансированного роста» (Левина и др., 2002). Описаны клетки с «выростами», удлинённые цилиндрические клетки, нитевидные структуры, петлеобразные формы, сферопласты, шаровидные и гранулярные формы и цисты, окруженные плотной мукоидной защитной оболочкой. Большинство этих структур появляется на разных этапах L-трансформации, которую могут индуцировать антибиотики, комплемент, иммунная сыворотка, недостаток питательных веществ в культуральной среде и др. Морфологически измененные формы боррелий (особенно цистные и гранулярные) сохраняют способность к размножению. При благоприятных условиях и в отсутствие L-трансформирующих факторов они могут реверсировать в обычные

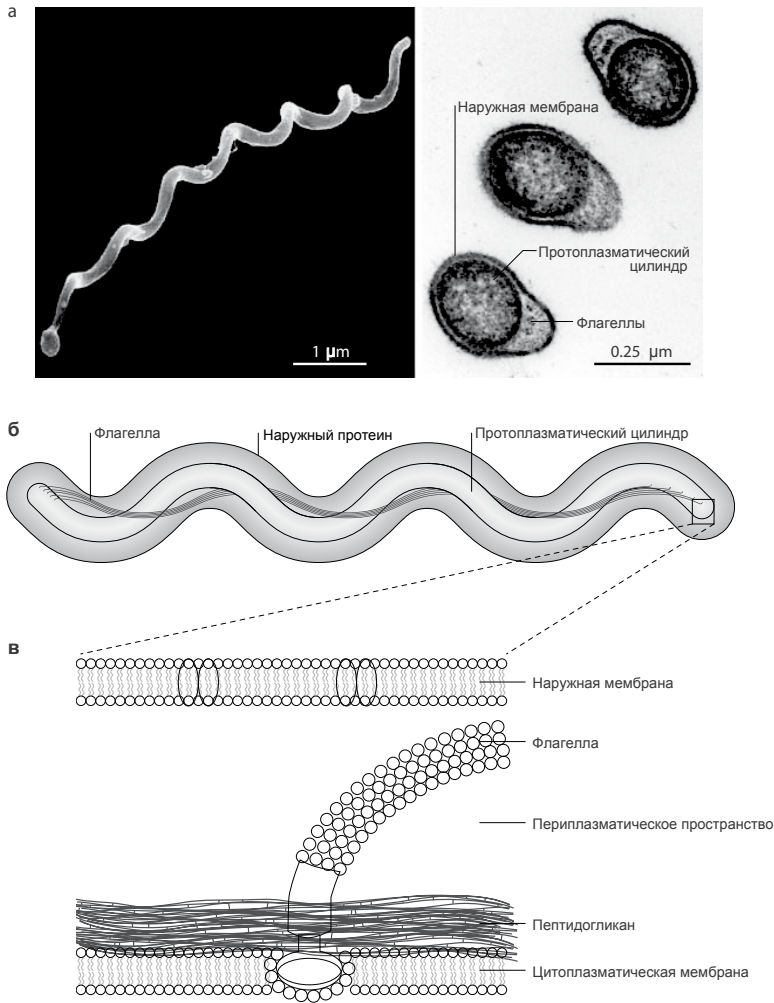


Рис. 3.2. Морфология боррелий (Rosa et al., 2005)

спиральные формы, вызывая при этом патологический эффект (Felsenfeld, 1971 и др.). В этой связи нельзя не отметить, что обнаруженные в клещах 4 морфологические типа микроорганизмов (как их называют авторы), отличающиеся друг от друга их формой и размерами (Балашов и др., 1997), не однозначно имеют отношение к *B. burgdorferi* s.l.

Боррелии испытывают недостаток ферментов, необходимых для цикла трикарбоновых кислот и фосфорилирования. Они не обладают способностью синтезировать аминокислоты, жирные кислоты, кофакторы ферментов и нуклеотиды. Для построения клеточной стенки им необходим N-ацетилглюкозамин (NAG), который может также выступать в качестве источника энергии. Для выращивания боррелий обычно используют жидкие среды, обогащенные аминокислотами, питательными веществами и витаминами. Эти бактерии относятся к числу микро-

аэрофилов, что необходимо учитывать при их культивировании. Для культивирования *B. burgdorferi* была модифицирована среда Келли, в состав которой, наряду с другими компонентами, входит NAG (первоначально создана для выращивания возбудителей АКБ), путем добавления бычьего альбумина, кроличьей или фетальной сыворотки, агарозы, дрожжевого экстракта, желатины (для придания коллагено-подобной вязкости), а также других компонентов (т.е. еще больше обогащена), причем оптимальная рН = 7,6. Среда оказалась пригодной для культивирования практически всех боррелий, связанных с иксодовыми клещами. По первым буквам фамилий ее создателей (Barbour, Stonner, Kelley) она получила название BSK, а ее селективный вариант — BSKII (Barbour, Hayes, 1986). При оптимальной температуре плюс 32–34 °С время генерации составляет 8–24 часа, причем у адаптированных к среде изолятов концентрация бактериальных клеток может достигать 10⁸ на мл. При существенном увеличении концентрации агарозы и желатины среда становится настолько плотной, что на ней можно выращивать отдельные колонии боррелий.

Боррелии очень чувствительны к высушиванию, гипо- и гипертоническим условиям, воздействию детергентов и температуре выше +40 °С. Однако в природе они обитают в организме клещей и позвоночных животных, не подвергаются прямому воздействию факторов внешней среды и воспринимают его через своих хозяев. *In vitro* (на питательной среде) они плохо размножаются при температуре ниже плюс 30–31° и выше +35 °С; очень чувствительны к показателям рН. Выращенные культуры 30–45 дней остаются жизнеспособными при +4 °С. В глицерине они длительно хорошо сохраняются при низких температурах (–70 °С). Формалин, фенол, этанол и другие дезинфицирующие вещества, а также ультрафиолет инактивируют боррелий (Barbour, Hayes, 1986; Johnson, 1998 и др.).

Размер хромосомы у разных боррелий составляет 0,91–4,3 Мб. Содержание GC варьирует в пределах 28,6–52,8%. У *Borrelia burgdorferi* s.l. оно составляет в хромосоме 28,6%, а в плаزمидах — 27,6%. Низкое содержание гуанина и цитозина, наряду с небольшой ДНК гомологией, отличает род *Borrelia* от родов *Treponema* и *Leptospira*. Генетическая организация боррелий группы ИКБ необычна для бактерий: они имеют небольшую линейную хромосому (910 725 пар нуклеотидов), а также могут иметь 12 линейных и 9 циркулярных плазмид (группа или семейство циркулярных плазмид ср32), которые содержат около 610 700 пн. Внехромосомный (плазмидный) феномен генного кодирования — не исключительное свойство боррелий. Однако большое количество линейных и кольцевых плазмид выделяет их среди других прокариот. Каждая линейная плаزمиды содержит копию участка хромосомы, а многие плазмиды — гомологичные ДНК регионы. Количество плазмид (от 5 до 20) и их размер (от 9 до 70 kbp) у боррелий разных геновидов и даже в разных условиях у изолятов одного геновида может отличаться. Например, у различных штаммов *B. burgdorferi* s.s. бывает, по меньшей мере, 17 плазмид: от 8 до 12 линейных и от 8 до 10 циркулярных (Bergström et al., 2002).

Определены полные геномы наиболее распространенных боррелий группы ИКБ. Хромосома содержит 853 гена, из которых только 500 (59%) обеспечивают

реализацию основных функций клетки (репликацию, транскрипцию и трансляцию, транспорт растворов и энергетический метаболизм), 104 (12%) — кодируют флагеллярные (*flaA*, *flaB*, *flgE*, *fliH* и *fliI* гены и *flgK* опероны) и гипотетические протеины, 249 (29%) — это гены, чья функция не ясна. Хромосома не содержит гены, кодирующие синтез аминокислот, жирных кислот, кофакторов энзимов и нуклеотидов, белки цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования. Предполагают, что эти гены утрачены в процессе эволюции боррелий от метаболически более развитого предка. Структура локализованных в центральной части хромосомы генов рибосомальной рНК ИКБ-боррелий уникальна. Она имеет по две копии 5S рРНК (*rrf*) и 23S рРНК (*rrl*) генов, которые представлены короткими тандемными повторами, и единственную копию 16S рРНК (*rrs*) гена. Нуклеотидные последовательности межгенного спейсера *rrfA* — *rrlB* (от 222 до 266 пн), а также *rrs* гена высоко вариабельны. Это используют как важный признак при изучении видовой и внутривидовой таксономии ИКБ-боррелий, однако последовательности 16S рРНК гена у близких видов могут иметь высокую степень сходства. Такие свойства рРНК гена не имеют боррелии группы АКБ. На 11 основных плаزمидях (9 линейных и 2 циркулярных) *B. burgdorferi* s.s., например, имеется 430 генов, из которых только около 20% идентифицированы. Они кодируют мембранные протеины Osp, декорин-связывающие белки, VlsE липопротеины и др. На плаزمидях Ip25 и Ip28-1 находятся гены, которые кодируют факторы вирулентности. Значение множества других плазмидных генов не ясно. Температурно-зависимая регуляция экспрессии генов *ospA* и *ospC*, кодирующих поверхностные белки *B. burgdorferi sensu lato*, по всей видимости в значительной мере обеспечивает быстрое приспособление боррелий в процессе их циркуляции к биохимическим особенностям нового хозяина. Так, в клеще (при температуре ниже 24°C) эти гены находятся в разной степени активности, что отражается на белковом составе внешней мембраны бактериальной клетки: всегда присутствует белок OspA, а OspC встречается крайне редко. Повышение температуры внешней среды или попадание боррелий в организм теплокровного животного приводят к активации гена, ответственного за синтез OspC, и заметному уменьшению экспрессии гена *ospA*. Плазмиды, на которых находятся гены, кодирующие большинство известных поверхностных антигенов, могут утрачиваться при культивировании боррелий на питательных средах (при многократном пересеве) или при их длительной персистенции в организме позвоночных. Это обычно приводит к изменению структуры поверхностных антигенов и, следовательно, отражается на характере иммунного ответа (Bergström et al., 2002; Rosa et al., 2005; Casjens et al., 2006 и др.).

3.2.2. Видовое и внутривидовое разнообразие

Род *Borrelia* сейчас включает 36–40 видов спирохет. Помимо упомянутых в таблице 3.1 боррелий группы АКБ и ИКБ, известны виды (*B. miyamotoi*, *B. barbouri*, *B. lonestari*), которые имеют признаки микроорганизмов обеих групп

и занимают в определенном смысле промежуточное положение, хотя по структуре генома они ближе к группе АКБ (Korenberg, 1994a; Коренберг, 1996). По опубликованным данным (Bacon et al., 2004; Marti et al., 1996; Mun et al., 2006; Barbour et al., 2009; Scott. et al., 2010; Wodecka et al., 2010; Ullmann et al., 2011; Фоменко и др., 2011; Сарксян и др., 2012; Guglotta et al., 2013; Krause et al., 2013; Taylor et al., 2013; и др.) есть определенные основания полагать, что, помимо *B. miyamotoi* sensu stricto, в природе существует несколько пока мало изученных или не описанных близких симбионтных для иксодовых клещей видов боррелий, которые в дальнейшем, возможно, образуют группу *B. miyamotoi* sensu lato (см. раздел 1.3). Видовой статус некоторых боррелий группы ИКБ (*B. andersonii*, *B. bissettii*) пока не вполне ясен.

Таблица 3.1. Список видов рода *Borrelia* (составлен по Margos et al., 2009, 2011; Oshagi et al., 2011; Rudenko et al., 2011) с учетом ряда первоописаний (Richter et al., 2006; Chu et al., 2008; Postic et al., 2007; Rudenko et al., 2009, 2009a; Schwan et al., 2009).

Группа	Виды	
АКБ	<i>B. baltazardii</i> <i>B. brasiliensis</i> <i>B. caucasica</i> <i>B. coriaceae</i> <i>B. crocidurae</i> <i>B. dugesii</i> <i>B. duttonii</i> <i>B. graingeri</i> <i>B. harveyi</i> <i>B. hermsii</i> <i>B. hispanica</i>	<i>B. johnsonii</i> <i>B. latyschewii</i> <i>B. mazzottii</i> <i>B. microtti</i> <i>B. parkeri</i> <i>B. persica</i> <i>B. recurrentis</i> <i>B. theileri</i> <i>B. tillae</i> <i>B. turcica</i> <i>B. turicatae</i> <i>B. venezuelensis</i>
ИКБ	<i>B. afzelii</i> <i>B. americana</i> <i>B. andersonii</i> <i>B. bavariensis</i> <i>B. bissettii</i> <i>B. burgdorferi</i> <i>B. californiensis</i> <i>B. carolinensis</i> <i>B. garinii</i>	<i>B. japonica</i> <i>B. kurtenbachii</i> <i>B. lusitaniae</i> <i>B. sinica</i> <i>B. spielmanii</i> <i>B. tanukii</i> <i>B. turdi</i> <i>B. valaisiana</i> <i>B. yangtze</i>

Среди спирохет группы ИКБ патогенность для человека доказана для *B. burgdorferi* sensu stricto — возбудителя классической американской болезни Лайма, распространенного также и в Европе, *B. garinii* и *B. afzelii* имеющих евразийские ареалы, и *B. spielmanii*, которая найдена пока только в Европе (Wang et al., 1999). Есть основания полагать, что кроме названных видов заболевание у человека могут вызывать *B. lusitaniae* и *B. valaisiana*. У пациента с эндокардитом

и стенозом клапана аорты в тканях сердечного клапана молекулярно-биологическими методами детектирована *B. bissettii* (Rudenko et al., 2008). С непатогенной для человека *B. theileri* связан боррелиоз крупного рогатого скота.

Этиологию и эпидемиологию ИКБ в нашей стране определяют отсутствующие в США возбудители *B. garinii* и *B. afzelii*. Как впервые показано путем идентификации 330 изолятов от иксодовых клещей, грызунов и больных людей, которые были получены в 1987–1995 гг. из 12 крупных административных территорий и хранятся в музее до настоящего времени, эти боррелии повсеместно (от Калининградской области на западе до Южного Сахалина на востоке) — главные сочлены естественных боррелиозных паразитарных систем (Коренберг и др., 1997; Postic et al., 1997). К настоящему времени идентифицировано уже около 600 изолятов из разных регионов; результаты полностью подтвердили прежние данные. В России, да и на большей части Евразии, практически везде, где существуют ИКБ, *B. garinii* и *B. afzelii* циркулируют совместно и имеют общих резервуарных хозяев и переносчиков (Korenberg, 1994; Sato et al., 1996; Коренберг др., 1997; Masuzava et al., 1997; Postic D. et al., 1997; Korenberg et al., 2002). Кроме того, на юге и в центре восточно-европейской части Евразии от клещей *I. ricinus* получены единичные изоляты *B. valaisiana* и *B. lusitaniae* (Коренберг и др., 1999), первые изоляты *B. burgdorferi sensu stricto* (Горелова и др., 2001), а также *B. spielmanii* (Нефедова и др. 2004, 2005, 2010), но их распространение гораздо более ограничено, а обнаружение пока имеет характер редких микробиологических удач, поскольку зараженность переносчиков спирохетами *B. burgdorferi s.s.* составляет менее 1% (Коренберг и др., 1999; Горелова и др., 2001). Нельзя исключить, что в пределах ареала клеща *I. ricinus* в некоторых природных очагах может быть обнаружена более высокая зараженность переносчиков спирохетами *B. burgdorferi s.s.* Имеются тезисные сообщения об обнаружении в Северо-Западном регионе России у клещей *I. ricinus* и *I. persulcatus* ДНК этих спирохет. Они нуждаются в подтверждении изоляцией возбудителя. Но и в этом случае значение *B. burgdorferi s.s.* как этиологического агента ИКБ останется в России в целом очень ограниченным, поскольку этиологию, эпидемиологию и клинические проявления этих заболеваний в основном определяют широко распространенные виды спирохет *B. garinii* and *B. afzelii* (Korenberg, 1995).

Белковый (антигенный) спектр боррелий довольно разнообразен и включает более 30 белков, характеризующихся определенной молекулярной массой (электрофоретической подвижностью). Он отличается не только у боррелий разных геновидов, но может быть не вполне сходным и у изолятов одного геновида (Barbour et al., 1984, 1985; Wilske et al., 1996, 2006; Fingerle et al., 2002 др.). Вместе с тем независимо от геновидовой принадлежности, все боррелии группы *B. burgdorferi sensu lato* имеют два главных белковых компонента: с молекулярным весом — 41 кД (P41 или флагеллин) и 60 кД (HSP60). Отдельные участки флагеллина специфичны для определенных видов боррелий; белок HSP60 присутствует у многих видов. Белки внешней оболочки проявляются

как основные иммуногены, причем некоторые из них видоспецифичны. Однако многие антигенные детерминанты разных геновидов боррелий (и даже некоторых других бактерий) сходны. Этим объясняется возможность перекреста в серологических реакциях.

Боррелии имеют поверхностные, жгутиковый и цитоплазматический антигены. Охарактеризованы 6 переменных поверхностных протеинов (Osp A-F). У *B. garinii*, например, обнаружены 13 вариантов OspC и 7 — OspA белков, а у *B. afzelii* — 8 OspC и 2 OspA. Вместе с тем *B. burgdorferi sensu stricto* отличается относительным постоянством спектра поверхностных белков. Многие из протеинов (P22, P35, P66, P83/100, Vmp, Mlp, RevA и ErrA), по всей видимости, имеют существенное значение как детерминанты вирулентности. В целом состав поверхностных белков у боррелий динамичен и во многом определяется особенностями экспрессии кодирующих их генов в разных условиях существования (в организме переносчиков или резервуарных хозяев) этих бактерий.

Всем геновидам боррелий, и в частности *B. garinii* и *B. afzelii* (Wang et al., 1998; Bunikis et al., 2004), свойственна весьма значительная генетическая гетерогенность. Этой проблеме уже посвящены многие десятки, а возможно, даже не одна сотня публикаций, включая несколько обзоров (Wang et al., 1999; Schwartz et al., 2006; Margos et al., 2011 и др.). В этой связи принципиально важно дифференцировать отличия в структуре генома, которые могут иметь значение для внутривидовой таксономии этих спирохет, но обычно не определяют характер инфекционного процесса и патогенез заболевания, от внутривидовой изменчивости микроорганизмов по переменным генетическим маркерам, имеющим клональную природу и адаптивный характер (Коренберг и др., 2006; Коренберг, 2010, 2012). Так, у широко распространенных геновидов боррелий, вызывающих ИКБ, описаны внутривидовые генотипические таксономические категории — подгруппы (или типы), каждый из которых может иметь несколько геновариантов.

Результаты мультилокусного сиквенс анализа изолятов *B. burgdorferi s.s.* из трех географически удаленных и разделенных частей Северной Америки, показали, что эти группы изолятов (западные, передающиеся клещами *I. pacificus* в Калифорнии; восточные, экологически связанные с *I. scapularis*; изоляты из среднего запада и северо-востока США, а также из Канады) генетически тесно связаны. Тем не менее, они представляют географически разделенные внутривидовые группы боррелий (авторы называют их популяциями), возникшие от общей предковой формы; поток генов между ними в настоящее время отсутствует или ограничен (Margos et al., 2011). Иными словами, происходит классическая внутривидовая дивергенция, обусловленная и поддерживаемая возникшей и сохраняющейся географической изоляцией.

У *B. garinii* на основании изучения методом ПЦР-ПДРФ межгенного спейсера рРНК *rrf* (5S)–*rrl* (23S) выявлены геномные подгруппы 20047^T и NT29 (Postic et al., 1994; Masuzawa, 2004), существование которых подтверждено результата-

ми секвенирования. Первая из них распространена в природных очагах Евразии с основными переносчиками *I. persulcatus* и *I. ricinus*, а вторая (NT29) — практически только в паразитарных системах с основным переносчиком *I. persulcatus*. Исходя из этого, их предложено соответственно называть евроазиатской и азиатской (Korenberg, 2002; Masuzawa, 2004). У *B. afzelii* также имеются две подгруппы: VS461 (Postic et al., 1994) и NT28 (Masuzawa, et al., 1996). Есть основания полагать (Нефедова и др., 2010), что таксономические единицы сходного ранга, которые пока условно можно назвать американской и европейской, будут обнаружены и у *B. burgdorferi* s.s. По результатам мультилокусного сиквенс типирования изолятов *B. garinii* они были разделены на 2 группы: ST-A и ST-B; высказано предположение, что боррелии группы ST-B более патогенны для человека, чем группы ST-A, причем обнаружена близость между «клиническими» и «грызунными» изолятами, а патогенные для человека боррелии происходят от грызунов и проходят через клещей (Takano et al., 2011). Пока, правда, не ясно, каково соотношение между этими сиквенс-группами и геномными подгруппами 20047^T и NT29 *B. garinii*, но это только дело времени.

Результаты этих исследований демонстрируют пути и перспективы изучения этиологической структуры природных очагов ИКБ на уровне внутривидовых геномных подгрупп боррелий, которые, разумеется, могут проводиться и с другими боррелиями, причем набор используемых при этом молекулярно-биологических методов в последние годы существенно расширился (Коренберг, 2012). Тем не менее, одним из основных аргументов, которым и прежде, и в настоящее время (когда популярным стал мультилокусный сиквенс анализ) обосновывают описание неизвестных ранее геновидов боррелий и (или) их внутривидовых таксономических категорий (в частности, подгрупп), было и остается различие (сходство) нуклеотидных последовательностей консервативного участка *rrf* (5S)–*rrl* (23S) спейсера в геноме изученных изолятов (Postic et al., 1994; Masuzawa et al., 1996; Miyamoto, Masuzawa, 2002; Derdakova et al., 2003; Baranton, Postic, 2006; Margos et al., 2010; Chu et al., 2011; и др.).

Своеобразие нуклеотидных последовательностей межгеномного спейсера позволяет различать внутри геномных подгрупп боррелий определенного вида четко кластеризующиеся варианты. Так, анализ результатов секвенирования идентичных участков *rrf* (5S)–*rrl* (23S) спейсера 227 собственных первичных изолятов из различных регионов Евразии и 73 соответствующих сиквенсов из базы данных GenBank, а также материалы, полученные методом ПЦР-ПДРФ, показал, что внутри генетических подгрупп *B. garinii* (20047^T и NT29) в совокупности можно выделить не менее 16 вариантов (рис. 3.3). Распространение по крайней мере значительной части из них имеет существенные отличия (Нефедова и др., 2010а). Сходные по функциональному смыслу 6 геновариантов, которые авторы называют RAPD субгруппами, выявлены при исследовании значительно меньшего числа изолятов методом «отпечатка пальцев» (RAPD fingerprinting analysis) 16S рПНК гена (Wang et al., 1998).

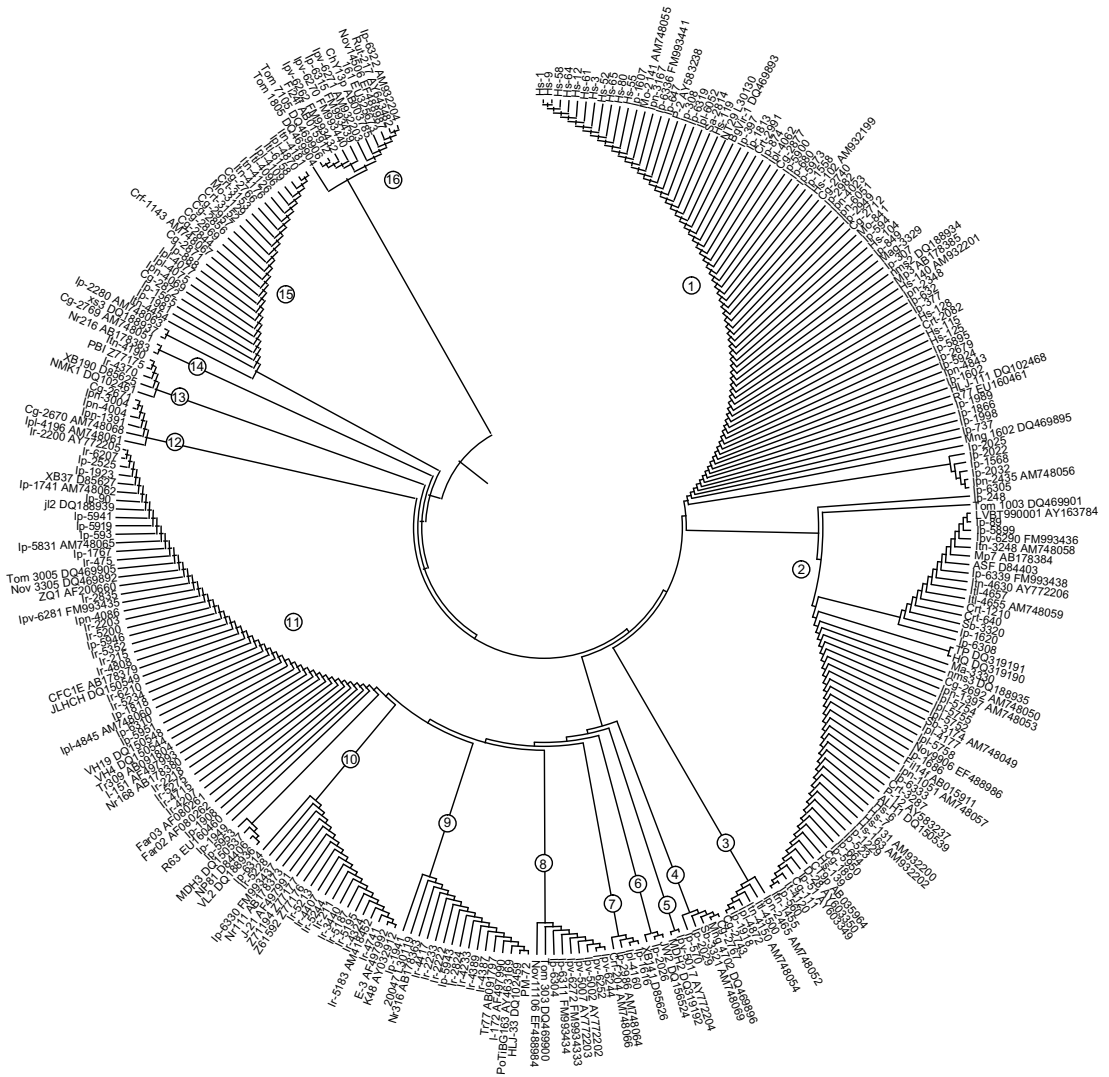


Рис. 3.3. Дендрограмма UPGMA (MEGA v. 3.1) 227 исследованных изолятов и 71 представителя *B. garinii* из базы данных EMBL/GenBank/DDJB, построенная на основании сходства нуклеотидных последовательностей участка *rrfA-rrlB*. Указаны маркировка, номера изолятов и номера доступа GenBank. Цифры в кружках — порядковые номера геновариантов (по В.В. Нефедовой и др., 2010а).

Аналогичные исследования спейсера 139 изолятов *B. afzelii* из музея лаборатории переносчиков инфекций НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН показали, что две генетические подгруппы этого возбудителя (VS461 и NT28) включают не менее 10 вариантов, для которых характерна своеобразная последовательность нуклеотидов *rrf-rrl* спейсера. Большинство из них, в отличие от геновариантов *B. garinii*, имеет широкое географическое распространение (Фадеева и др., 2005; Korenberg et al., 2006).

Сходство нуклеотидных последовательностей между изолятами внутри большинства генетических вариантов каждой из двух подгрупп *B. garinii* и двух подгрупп *B. afzelii* достигает 100 % (Фадеева и др., 2005; Korenberg et al., 2006; Коренберг, Нефедова, 2010; Нефедова и др., 2010а). Подобную совокупность (изолятов), относящихся к определенной генетической подгруппе конкретного геновида боррелий и имеющих сходную по характеру инсерций, делеций или замен последовательность нуклеотидов спейсера, предложено называть генетическим вариантом (геновариантом) боррелий. По всей видимости, геновариант — это наименьшая внутривидовая таксономическая единица у широко распространенных боррелий — возбудителей ИКБ. Таким образом, представляется возможным применительно к боррелиям ниже надвидовых дифференцировать следующие три таксономические категории: геновид (геногруппа, вид), генетическая подгруппа (подвид), геновариант (Коренберг и др., 2011).

В сочетанных паразитарных системах, образованных спирохетами *B. garinii* и *B. afzelii*, одновременно могут циркулировать не только их разные подгруппы (Korenberg et al., 2002; Livanova et al., 2003; Ливанова и др., 2010), но и несколько различных геновариантов каждого из этих возбудителей ИКБ. В южнотаежных лесах Пермского края, например, такие природные очаги, имеющие сложную этиологическую структуру, которую образуют 14 геновариантов боррелий, относятся к двум генетическим подгруппам *B. garinii* и двум генетическим подгруппам *B. afzelii* (табл. 3.2). Различные геноварианты *B. garinii* и *B. afzelii* встречаются в этих сочетанных природных очагах ИКБ далеко не одинаково часто. Так, из 161 изолята, которые были исследованы, 21 (13,0±6,4 %) относился к геноварианту 1 подгруппы NT 29, примерно столько же к геноварианту 2 этой же подгруппы и к геноварианту 15 подгруппы 20047^T *B. garinii*. У *B. afzelii* значительно чаще других встречались геноварианты 1 (24,2±7,7 % всех исследованных изолятов) и 2 (13,7±6,5 %) подгруппы VS 461 (табл. 3.2). В совокупности 129 изолятов (80,1±6,3 %) относятся к одному из этих пяти перечисленных геновариантов боррелий, которые представляют собой «основу» этиологической структуры этих природных очагов. Остальные 6 геновариантов *B. garinii* и 3 геноварианта *B. afzelii* встречаются значительно реже, но, по всей видимости, ежегодно. Приведенные данные позволяют сделать статистически совершенно очевидное заключение: для их регулярного выявления нужно каждый год исследовать более репрезентативное число изолятов. В таблицу 3.2 отдельной строкой включены, например, сведения лишь за те годы, когда были исследованы не менее 10–12 изолятов. С увеличением их числа увеличивается и количество обнаруженных геновариантов. Поэтому выводы о региональных или популяционных генотипических особенностях боррелий (как и других возбудителей природноочаговых инфекций), которые сейчас зачастую делают на основании сопоставления генетической структуры небольшого числа случайных изолятов, могут оказаться совершенно неправомерными (Коренберг, 2010, 2012).

Таблица 3.2. Результаты выявления различных геновариантов боррелий на конкретной территории в южнотаежных лесах Пермского края, где одновременно циркулируют *B. garinii* и *B. afzelii* (Коренберг и др., 2011). Номера геновариантов соответствуют тем, которые даны при их описании (Фадеева и др., 2005; Нефедова и др. 2010а).

Годы	Всего изолятов	Из них <i>B. garinii</i>									Из них <i>B. afzelii</i>				
		Геноварианты подгруппы NT 29			Геноварианты подгруппы 20047 [†]						Геноварианты подгруппы VS 461			Геноварианты подгруппы NT 28	
		1	2	3	4	7	11	12	14	15	1	2	7	8	10
1993	12	+	+	–	–	+	–	–	–	+	+	+	–	–	–
1994	12	–	+	–	–	–	–	+	–	–	+	+	–	–	+
1996	10	+	+	+	–	–	–	–	–	+	+	+	–	+	–
1997	16	+	+	–	–	+	–	+	–	–	+	+	+	–	+
1998	36	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+
2000	32	+	–	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	–	+
2002	12	–	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–
Всего (1992–2003)	161	21	23	5	2	3	4	6	1	24	39	22	4	1	6

Кроме генотипических категорий по крайней мере двух рангов, которые могут иметь то или иное значение для их внутривидовой таксономии, боррелиям ИКБ группы, свойственны варианты внутрипопуляционной изменчивости по варибельным генетическим маркерам. Такие аллельные варианты известны для генов, кодирующих белки *OspA*, *OspC*, *P66*, *P83/100* и др. У *B. afzelii*, например, для гена *р66* описано семь аллельных вариантов, причем большинство из них широко распространены в природных очагах Евразии среди различных видов клещей и мелких млекопитающих. Все аллельные варианты гена *р66* встречаются в обеих геногруппах (*VS461* и *NT28*) *B. afzelii*, а разные геноварианты боррелий этого вида (см. выше) имеют несколько таких аллельных вариантов (Фадеева и др., 2006а; Korenberg et al., 2006). У *B. garinii* обнаружены 11 *ospC*-вариантов, из них 7 — инвазивных (Lagal et al., 2003) и 3 *ospA*-варианта (Mediannikov et al., 2005). У *B. burgdorferi* s.s. имеется по меньшей мере четыре аллельных варианта *ospA*, несколько вариантов генов *р66*, *fla* и, судя по структуре белков (Anderson and Norris, 2006), гена, кодирующего белки *ospC*. Не все, но многие из таких аллельных вариантов фенотипически выражены аминокислотными заменами. В природном очаге одновременно циркулируют несколько аллельных вариантов различных генов, что определяет генетическую гетерогенность популяции возбудителя (Фадеева и др., 2006а). Показано, что популяционная структура *B. burgdorferi* s.s. в северной Калифорнии, например, может включать 13 аллельных вариантов гена *ospC*, которые принадлежат к 12 различным геновариантам (генотипам по терминологии авторов публикации — Girard et al., 2009).

Как отмечено выше, благодаря гетерогенности переменных или мало консервативных участков генома, в природе осуществляется динамика эколого-генетической структуры популяции боррелий, которая имеет адаптивное значение. В ее основе по всей видимости лежит клональная изменчивость боррелий (Barbour, 1985; Boerlin et al., 1992; Dykhuizen et al., 1993; Wang et al., 1999; Randolph, 2004 и др.) и последующая судьба клонов при их циркуляции в природном очаге. Экологический смысл этого явления очевиден: гетерогенность микроорганизмов обеспечивает устойчивость образованной ими паразитарной системы и, в частности, их выживание при взаимодействии с разнообразными резервуарными хозяевами и переносчиками, а через них — и с постоянно изменяющимися факторами внешней среды. Особенно большую генетическую гетерогенность демонстрирует широко распространенная в Евразии *B. garinii* (Will et al., 1995; Lagal et al., 2003). Так, в евразийской субарктике *B. garinii*, по всей видимости, имеет два частично перекрывающиеся варианта (типа) структуры популяций, отличающихся уровнем генетической гетерогенности; предположительно это связано с особенностями селективного давления на спирохет в морских и наземных эпизоотических циклах (Comstedt et al., 2009). Значение таких процессов в инфекционной патологии может оказаться различным и требует детального изучения путем мониторинга за генетической структурой популяций боррелий (как и любых других возбудителей) в природных очагах (Korenberg и др., 2006; Korenberg et al., 2006).

3.3. Распространение природных очагов

Боррелии группы ИКБ экологически и коэволюционно наиболее тесно связаны с ограниченной группой видов иксодовых клещей богатого по видовому составу и чрезвычайно широко распространенного рода *Ixodes*, а точнее его подрода *Ixodes sensu stricto*. Эта группа видов не имеет четкого таксономического статуса и общепринятого названия. В нашей стране она изначально получила название группы *I. persulcatus* (Филиппова, 1969, 1985), а за рубежом — евразийского комплекса *I. (I.) ricinus* комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus* (Hoogstraal, 1986; Keirans et al., 1992). Акарологи признают близость происхождения 14–15 видов клещей, образующих этот комплекс, и его естественный характер. Среди этих видов — все основные переносчики *B. burgdorferi sensu lato* (раздел 3.4.1), с которыми связано не только широкое распространение ИКБ в основном в северном полушарии (рис. 3.4), но и палеогенез этих спирохет (Филиппова, 1991; Korenberg, 1994а; Korenberg, 1996; Margos et al., 2008, 2011).

В пределах России находится значительная или даже большая часть мирового ареала ИКБ (Korenberg, 1994, 1995). Его границы и основные черты распределения природных очагов в Евразии, как и при КЭ, определяются границами распространения и размещением основных переносчиков боррелий этой группы

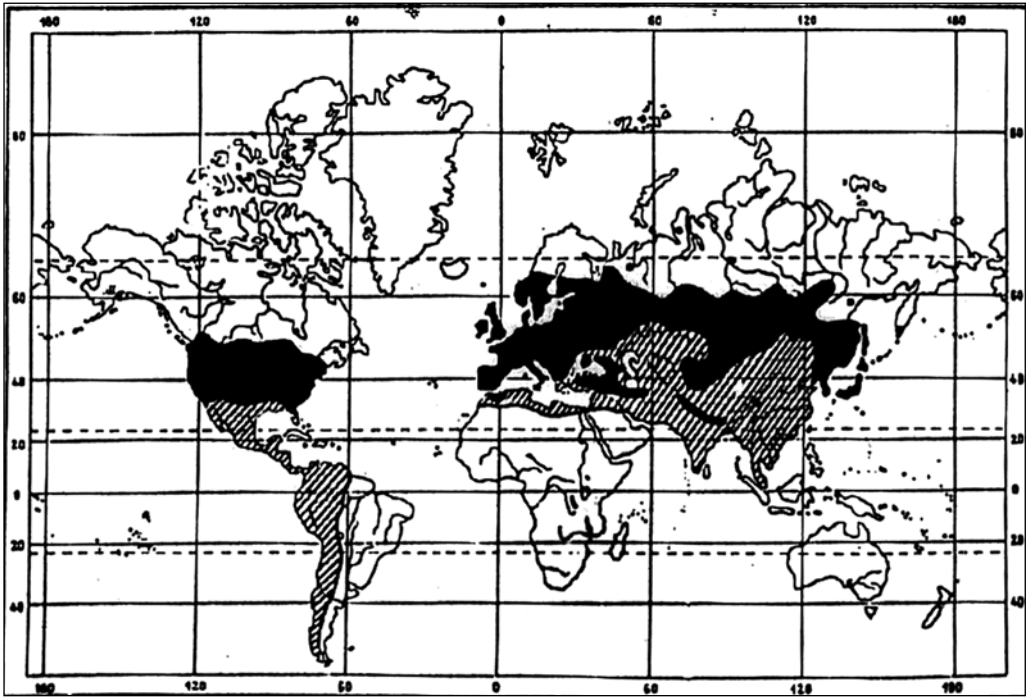


Рис. 3.4. Распространение клещей группы *Ixodes persulcatus* (черная область) и (черная вместе с заштрихованной областью) распространение всего подрода *Ixodes s. str.* (Filippova, 1991).

клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*. Поэтому все, что изложено в разделе 2.3 имеет непосредственное отношение и к распространению природных очагов ИКБ.

В этой связи можно лишь еще раз обратить внимание на то, что клещ *I. persulcatus* приурочен главным образом к различным вариантам тайги, но встречается и в некоторых других растительных формациях. На равнинных пространствах его ареал охватывает, по меньшей мере, 6 зональных типов растительности: северную, среднюю и южную тайгу, широколиственно-хвойные и широколиственные леса, а также лесостепь. Это разнообразие увеличивает высотная поясность горных районов. Перечень группировок растительности (даже самого высокого ранга), в которых встречается таежный клещ, очень велик (Коренберг, Ковалевский, 1985).

В равнинной средней тайге при недостаточной для клещей теплообеспеченности и значительном увлажнении они встречаются только на наиболее дренированных и прогреваемых местах. В такой ситуации в Северо-Западном регионе, например, природные очаги ИКБ приурочены к еловым и мелколиственным лесам, пятна которых изолированы друг от друга многочисленными озерами, болотами, сырыми и перестойными насаждениями. В обширных плакорных среднетаежных лесных массивах *I. persulcatus* обнаруживается главным образом на осветленных опушках и в непосредственной близости от населенных пунктов,

а в среднетаежной полосе Западной Сибири наиболее благоприятная обстановка для циркуляции боррелий складывается в интразональных условиях крупных речных долин.

В более теплообеспеченных южнотаежных лесах Европейской равнины переносчик почти повсеместно распространен в плакорных лесных биоценозах. Однако даже в южной тайге при избыточном увлажнении, которое свойственно довольно обширным территориям Западной Сибири, таежный клещ приурочен главным образом к хорошо дренированным речным долинам и смешанным суходольным лесам. В полосе лесостепей в условиях некоторого дефицита влажности для клещей и хорошей теплообеспеченности переносчики встречаются только в центральной части осиново-березовых колков или по дну балок и на склонах северной экспозиции.

Особенности высотной приуроченности *I. persulcatus* и очагов ИКБ существенно отличаются в зависимости от общего географического положения горной системы, ее орографии, перепада высот и, вероятно, от ряда других причин. В лесах гор юга Средней Сибири, например, паразитологические предпосылки для существования боррелий имеются практически повсеместно от лесостепи у подножий до верхней границы леса, которая проходит примерно на высоте 1400 м над уровнем моря. Примерно такая же картина наблюдается в северо-восточном Алтае, но граница леса там проходит несколько выше, и клещи доходят до высоты почти 2000 м. Однако, если в связи с орографическими особенностями лес начинается выше 1500 м, таежный клещ в нем отсутствует; нет его и на безлесных остепненных склонах южной, юго-восточной и юго-западной экспозиций. Недалеко от северных пределов распространения *I. persulcatus* в горных хребтах среднетаежной полосы Хабаровского края этот переносчик регулярно встречается на северо-западных макросклонах лишь до 750–800 м, а на более теплообеспеченных противоположных макросклонах — практически до вершин, т.е. примерно до высоты 1400 м над уровнем моря. Приведенные примеры, безусловно, не исчерпывают разнообразия ландшафтно-биотопической приуроченности таежного клеща, определяющей локализацию природных очагов ИКБ на громадной и разнообразной территории России, поскольку вследствие проявления интразональности и экстразональности в пределах той или иной зональной полосы складываются существенно различные условия, которые могут быть равнозначными смещению более чем на целую зону.

Клещ *I. ricinus* предпочитает преимущественно умеренно-гигрофильные и мезофильные биотопы, занятые равнинными и горными широколиственными и смешанными лесами. На севере ареала, в подзоне южной, а местами и средней тайги он придерживается более теплообеспеченных сосново-лиственных и осветленных вторичных лесов, вырубков, лесных опушек и закустаренных лугов. Южнее границы распространения сплошных зональных широколиственных лесов этот переносчик локализуется в более увлажненных пойменных лесах и древесно-кустарниковых зарослях в понижениях рельефа (Филиппова, 1977).

По данным Федерального центра Роспотребнадзора к настоящему времени больных этими инфекциями регистрируют в 63 субъектах Российской Федерации от Прибалтики до Дальнего Востока и Южного Сахалина. Ландшафтно-эпидемиологическое районирование отдельных частей ареала ИКБ, проведенное в Пермском крае (Алыпova и др., 2002), Западной Сибири (Матущенко, Рудакова, 1993; Колчанова, 1997; Оберт и др., 2001), Иркутской области (Черногор, 1999) и некоторых других областях подтверждает представления о закономерностях зонального распределения природных очагов ИКБ, изложенных выше. Так, в Тюменской области наибольшая численность взрослых клещей *I. persulcatus* и их зараженность боррелиями характерна для подтайги, а существенно более низкая — для средней тайги и северной лесостепи (Колчанова, 1997). В целом наиболее активные природные очаги связаны с широколиственными, смешанно-широколиственными и южнотаежными лесами.

3.4. Эпизоотология

3.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики боррелий

Как и при других природноочаговых трансмиссивных зоонозах, механизм передачи боррелий в полной мере проявляется по ходу эпизоотической цепи при их циркуляции независимо от человека. Важнейшее значение для эпизоотологии ИКБ имеют адекватные представления о главных резервуарных хозяевах боррелий, причем для значительной части евразийского ареала природных очагов речь прежде всего идет о хозяевах *B. garinii* и *B. afzelii* (раздел 3.2). Западные исследователи считают, что эти боррелии имеют совершенно различных резервуарных хозяев: *B. garinii* — главным образом птиц, а *B. afzelii* — мелких млекопитающих. Аргументация этого положения, не подкрепленная необходимыми доказательствами, довольно долго сводилась к тому, что во внутренних органах мелких млекопитающих и в их коже якобы персистируют не одинаковые геновиды боррелий. Преувеличивая степень тропизма *B. afzelii* к кожным покровам и отказывая в этом свойстве *B. garinii*, полагали, что *B. garinii* присутствует (исключительно или главным образом) только во внутренних органах зверьков и не передается питающимся на них клещам, поскольку боррелии этого вида отсутствуют в кожном покрове хозяев. Следовательно, мелкие млекопитающие не являются резервуарными хозяевами *B. garinii* и могут передавать клещам только *B. afzelii* (Humair et al., 1995, 1999; Gern et al., 1997; Hu et al., 1997; Kurtenbach et al., 1998). Однако подавляющая часть изолятов, полученных путем параллельных посевов внутренних органов и кожных биоптатов спонтанно зараженных мелких млекопитающих, отловленных в природном очаге, а также от снятых с них личинок *I. persulcatus*, относилась к двум вариантам *B. garinii*, причем во внутренних органах (мочевой пузырь) эти боррелии встречались даже несколько реже, чем в коже (Korenberg et al., 2002).

На следующем этапе хозяйственная специфичность различных боррелий была рассмотрена через призму особенностей состава системы комплемента крови позвоночных, который, по мысли исследователей, влияет или даже определяет возможность их становления резервуарными хозяевами (Kurtenbach et al., 1998a). В итоге сделан вывод, что циркуляция *B. garinii* 20047^T, (а также *B. valaisiana*) связана с птицами, а *B. garinii* NT 29, *B. afzelii*, (а также *B. bissettii* и *B. japonica*) — с мелкими грызунами (Kurtenbach et al., 2002).

Что касается птиц, то единственная не слишком репрезентативная (94 посева кожных биоптатов и проб головного мозга от птиц четырех видов, тесно связанных с нижним ярусом леса) не дала ни одного изолята (Korenberg et al., 2002). Тем не менее есть основания полагать, что по тем же причинам, как при КЭ (раздел 2.4.1), птицы могут быть реально значимыми хозяевами боррелий лишь в некоторых регионах России, для которых характерен длительный период активности личинок и нимф клещей-переносчиков при их высокой численности.

Прокормителями различных фаз развития таежного и лесного клеща могут быть позвоночные животные многих видов (2.4.1). По некоторым немногочисленным данным крупные животные, на которых паразитируют не только взрослые клещи, но и нимфы, видимо, могут вовлекаться в эпизоотический процесс (Talleklint and Jeanson, 1993; Isogai et al., 1994, 1996; Kimura et al., 1995). В крови и внутренних органах ежей, например, в Центральной Европе и Великобритании во многих случаях обнаружена ДНК *B. afzelii*, *B. bavariensis* и *B. spielmanii* (Skuballa et al., 2012). Появились данные о возможной причастности интродуцированных во Франции сибирских бурундуков (Marsot et al., 2011) и серых белок в США (Leonhard et al., 2010) к циркуляции боррелий. У 2,9 % нимф *I. ricinus*, снятых с косуль в южной Норвегии, а также 4,4 % нимф и 6 % взрослых клещей, собранных с лосей, детектирована ДНК *B. burgdorferi* s.l. (Kjelland et al., 2011). Поскольку в отличие от КЭ трансвариальная передача боррелий, как правило, не происходит или наблюдается в редких случаях, особенно важное значение может иметь первичное заражение или «подзаражение» личинок и нимф на этих животных. Повсеместно как резервуарные хозяева спирохет важную роль играют мелкие млекопитающие, на которых паразитируют личинки и нимфы клещей.

Информация и выводы о резервуарных хозяевах и переносчиках боррелий, которые представлены далее, основаны на репрезентативных данных: в общей сложности идентифицировано почти 800 изолятов. Они получены и идентифицированы от 8 видов мелких млекопитающих из различных регионов России, причем *B. afzelii* и обе геногруппы *B. garinii* выделены от всех исследованных массовых видов лесных полевок (*Clethrionomys glareolus*, *Cl. rutilus*, *Cl. rufocanus*) и от полевки-экономки (*Microtus oeconomus*). Боррелии изолированы также от лесных мышей рода *Apodemus* и от мелких млекопитающих некоторых других видов (Gorelova et al., 1995; Матущенко и др., 1996; Sato et al., 1996; Коренберг и др., 1997, 2002; Postic et al., 1997; Sent Girons et al., 1998; Korenberg et al., 2002). В целом

уже эти данные опровергли не только представления западных коллег, но и наши собственные предположения о возможной связи *B. garinii* и *B. afzelii* с определенным набором их основных хозяев в природе, возникшие, когда стало понятно, что эти спирохеты способны сосуществовать в одной экосистеме (Коренберг, 1993). Оказалось, что предпочтение определенного геновида боррелий и их генетических подгрупп по отношению к какому-то виду (или видам) хозяев не наблюдается. Дальнейшие исследования показали, что хозяйинная специфичность не выражена и у геновариантов этих спирохет, т.е. мелкие млекопитающие оказались хорошими резервуарными хозяевами не только *B. garinii* и *B. afzelii* в целом, но и боррелий каждой из генетических подгрупп и их геновариантов, свойственных данным геновидам (Фадеева и др., 2005; Korenberg et al., 2006; Нефедова и др. 2010). Чем больше изолятов удастся исследовать от животных каждого вида, тем полнее становится картина их возможной роли как хозяев боррелий, относящихся к разным геновариантам (табл. 3.3).

Таблица 3.3. Хозяева различных геновариантов *B. garinii* и *B. afzelii* в южнотаежном сочтанном природном очаге ИКБ в Пермском крае по обобщенным данным, полученным в 1992–2003 гг. (Коренберг и др., 2011). Номера геновариантов соответствуют тем, которые даны при их описании (Фадеева и др., 2005; Нефедова и др., 2010а).

Виды	Всего изолятов	<i>B. garinii</i>									<i>B. afzelii</i>				
		Геноварианты подгруппы NT 29			Геноварианты подгруппы 20047T						Геноварианты подгруппы VS 461			Геноварианты подгруппы NT 28	
		1	2	3	4	7	11	12	14	15	1	2	7	8	10
Тажный клещ (<i>I. persulcatus</i>)	78	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+	+	
Личинки	24	+	+	+		+	+	+		+	+	+		+	
Нимфы	31	+	+	+			+	+		+	+	+	+		
Имаго	23	+	+			+	+			+	+	+	+	+	
Клещ <i>I. trianguliceps</i>	19		+	+						+	+	+			
Рыжая полевка (<i>Cl. glareolus</i>)	29	+	+	+	+			+	+	+	+	+			
Красная полевка (<i>Cl. rutilus</i>)	11	+	+							+	+	+			
Полевка-экономка (<i>Microtus oeconomus</i>)	10	+								+	+		+	+	
Прочие виды	14	+	+		+	+				+	+	+	+	+	

В специальном обзоре, который посвящен переносчикам *B. burgdorferi* sensu lato (Eisen, Lane, 2002), указаны шесть видов иксодовых клещей из комплекса *I. ricinus/persulcatus* (раздел 3.3; рис. 3.4): *I. affinis*, *I. jellisoni*, *I. pacificus*, *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. scapularis*. Кроме того, в числе переносчиков (vector

competence) названы еще 6 видов рода *Ixodes*: *I. angustus*, *I. dentatus*, *I. hexagonus*, *I. minor*, *I. muris*, *I. spinipalpis*. Этот список выглядел неполным к моменту его опубликования, поскольку уже были изолированы боррелии от клещей *I. columnae*, *I. granulatus*, *I. nipponensis*, *I. ovatus*, *I. tanuki*, *I. turdi* в Японии, Южной Кореи (Masuzawa et al., 1991, 1996, 1996a; Miyamoto et al. 1992; Nakao et al., 1992; Kavabata et al., 1993; Nakao and Miyamoto, 1993; Fucunaga et al., 1996, 1996a; Miyamoto, Masuzawa, 2002), а также в России (Горелова и др., 1996; 2001a; Коренберг и др., 1997). На территории России (как и в пределах подавляющей части Евразии) из клещей названных видов распространены только *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pavlovskiy* и *I. trianguliceps*.

Таежный (*I. persulcatus*) и лесной (*I. ricinus*) клещи — основные переносчики и долговременные хранители боррелий в природных очагах, а также источник этих возбудителей для человека. Таежный клещ выполняет эту роль на обширной территории южной части лесной зоны Евразии от Дальнего Востока до Северо-Западного региона России (за ее пределами он имеет ограниченное распространение главным образом в некоторых странах Азии), а лесной клещ — в аналогичных лесах Европы. В пределах значительной части европейской территории России, где эти клещи распространены симпатрично (рис. 2.3), как и при КЭ, существуют природные очаги ИКБ с основными переносчиками двух видов (Korenberg, 1994; Filipova, 1999). При этом наличие и доля клещей одного вида в их населении не имеет существенного влияния на экстенсивность заражения и следовательно на эпизоотическую и эпидемическую значимость другого переносчика (табл. 3.4). В целом *I. ricinus* менее эффективный переносчик в очагах ИКБ, чем *I. persulcatus* (Коренберг и др., 1991; Korenberg et al., 1991; Коренберг, 1993).

Таблица 3.4. Зараженность взрослых клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* боррелиями *B. burgdorferi sensu lato* на Северо-Западе России в пунктах с различной долей *I. persulcatus* в их сборах (Korenberg et al., 2001)

Процент <i>I. persulcatus</i>	Число исследованных клещей		Зараженность клещей (%)	
	<i>I. persulcatus</i>	<i>I. ricinus</i>	<i>I. persulcatus</i>	<i>I. ricinus</i>
в сборах				
0	—	158	—	12,0+5,2
0,1–25,0	291	2219	18,2+4,5	21,0+1,7
25,1–50,0	НЕТ ДАННЫХ			
50,1–75,0	141	51	31,9+7,9	21,6+11,5
75,1–99,9	2923	146	34,5+1,7	15,7+6,0
100	1281	—	33,8+2,6	—

Клещ *I. pavlovskiy*, современный дезъюнктивный ареал которого состоит из западной (алтайско-сибирско-саянской) и дальневосточной частей, морфологиче-

ски и экологически очень близок к клещу *I. persulcatus* и встречается симпатрично с ним практически повсеместно (Филиппова, 1977, 1999). Боррелии впервые изолированы от *I. pavlovskyi*, собранных на юго-западном Алтае вблизи границы между Казахстаном и Россией (Горелова и др., 2001a). Роль этого вида в эпизоотологии и эпидемиологии ИКБ долго оставалась неясной.

Высокий уровень зараженности клещей *I. pavlovskyi* боррелиями показал, что этот переносчик — хороший хозяин этих спирохет и участвует в эпизоотическом процессе. Более того, оказалось, что существуют природные очаги, в которых при очень низкой численности или даже в отсутствие таежного клеща функцию основного членистоногого — хозяина и переносчика боррелий выполняет клещ *I. pavlovskyi* (Korenberg et al., 2010). Личинки и нимфы этого вида имеют широкий круг прокормителей, включающий главным образом мелких млекопитающих и птиц. В отличие от *I. persulcatus*, взрослые *I. pavlovskyi* охотно нападают на птиц (Ушакова, Филиппова, 1968; Сапегина, 1972; Филиппова, 1977). Поэтому в пределах ареала *I. pavlovskyi* не только мелкие млекопитающие, но и птицы, по всей видимости, могут быть важными резервуарными хозяевами боррелий, причем как в тех природных очагах, где этот вид встречается вместе с таежным клещом, так, очевидно, и в отсутствие последнего. Вместе с тем *I. pavlovskyi* менее агрессивен по отношению к человеку, чем *I. persulcatus*, и заметно реже нападает на людей (Ковалевский и др., 1975). По всей видимости, *I. pavlovskyi* по сравнению с таежным клещом имеет гораздо меньшее эпидемическое значение даже при сходной численности этих видов.

Клещ *Ixodes (Exorhynchus) trianguliceps*, распространенный в лесной зоне Евразии от Британии до Урала, не нападает на людей. Все фазы его развития прокармливаются преимущественно на мелких млекопитающих (Korenberg, Lebedeva, 1969; Филиппова, 1977). Спонтанная зараженность *I. trianguliceps* патогенными боррелиями впервые доказана изоляцией нескольких штаммов *B. garinii* от нимф, собранных с мелких млекопитающих в горно-таежных лесах Пермского края (Горелова и др., 1996; Коренберг и др., 1997), где этот клещ и преимагинальные фазы развития *I. persulcatus* паразитируют на одних и тех же видах зверьков-прокормителей и предпочитают одну и ту же их демографическую группу. Многолетние репрезентативные данные, полученные в этой экосистеме, показали, что *I. trianguliceps* регулярно вовлекается в циркуляцию возбудителей ИКБ. Однако, невысокое обилие этого клеща (по сравнению с *I. persulcatus*) и низкий уровень его зараженности боррелиями не позволяют *I. trianguliceps* существенно влиять на динамику эпизоотического процесса в природных очагах ИКБ и, тем более, самостоятельно поддерживать циркуляцию боррелий в отсутствие основного переносчика (Ковалевский и др., 2013). Это согласуется с представлением о тесной связи возбудителей ИКБ с ограниченным числом видов подрода *Ixodes*, входящих в состав комплекса *I. (I.) ricinus/persulcatus*, и, как правило, не более чем второстепенной векторной роли других клещей подсемейства *Ixodinae* (Филиппова, 1990; Filippova, 1991; Коренберг, 1996).

У всех видов клещей — переносчиков боррелий в России обнаружены как *B. garinii*, так и *B. afzelii* (Коренберг, 2002; Korenberg et al., 2002, 2009; Нефедова и др., 2005). Пока нет данных о большей связи этих боррелий с каким-то определенным видом переносчиков. Некоторое исключение представляет клещ *I. trianguliceps*: доля изолятов *B. afzelii* от клещей этого вида оказалась достоверно ниже (а *B. garinii* — выше), чем у мелких млекопитающих — резервуарных хозяев и кормящихся на них предимаго *I. persulcatus* (Ковалевский и др., 2013). Это подтверждает предположение (Korenberg et al., 2002) о том, что *I. trianguliceps* менее восприимчив к *B. afzelii*, чем к *B. garinii*. В целом резервуарные хозяева и переносчики этих боррелий по нашим данным оказались практически идентичными.

Как уже говорилось (раздел 3.2.2), *B. garinii* имеет две генетические подгруппы: 20047^T and NT29. Первая из них встречается у всех переносчиков, а вторая обнаружена только у клещей *I. persulcatus*, *I. pavlovskiyi* и *I. trianguliceps*. Иными словами, *B. garinii* NT29 пока не удалось изолировать от клещей *I. ricinus*, хотя в общей сложности к настоящему времени типировано 79 изолятов, полученных от них из разных областей России, включая те, в которых *I. ricinus* и *I. persulcatus* распространены симпатрично. Поэтому есть основания полагать, что распространение *B. garinii* NT29 связано с клещом *I. persulcatus* (Postic et al., 1997), а *I. ricinus*, по всей видимости, по каким-то пока неясным причинам — плохой переносчик боррелий этой подгруппы.

Данные, представленные в таблице 3.3, показывают, что на конкретной небольшой территории разные фазы развития основного переносчика — клеща *I. persulcatus*, дополнительный переносчик — клещ *I. trianguliceps* (как и фоновые виды мелких млекопитающих — резервуарных хозяев) могут быть заражены боррелиями любого из геновариантов, и следовательно разные геноварианты не связаны с каким-либо видом переносчика и резервуарного хозяина. Чем больше изолятов удастся исследовать от животных каждого вида, тем полнее становится картина их возможной роли как хозяев боррелий, относящихся к разным геновариантам. Эти данные свидетельствуют также о сложности этиологической структуры сочетанных природных очагов ИКБ и о потенциальной возможности заражения людей, посещающих подобные очаги, возбудителем одного или одновременно несколькими из циркулирующих здесь геновариантов. Более 60 % всех монокультур боррелий, полученных здесь от *I. persulcatus* и резервуарных хозяев, оказались *B. garinii*, а остальные — *B. afzelii* (Горелова и др., 2004, 2004а). Между тем все без исключения изоляты, полученные нами в разные годы в Пермском крае как из кожных биоптатов, так и из крови больных ИКБ, относились только к геновариантам 1 или 2 подгруппы NT 29 *B. garinii* (Воробьева и др., 1998; Нефедова и др., 2009). Соотношение разных геновидов боррелий среди изолятов, выделенных в Словении от переносчиков — клещей *I. ricinus* и их хозяев, значительно отличалось от такового в группе изолятов, полученных от людей. Так, 25–53 % изолятов от клещей и зверьков относились к *B. afzelii*, 34–50 % — к *B. garinii* и 13–36 % — к *B. burgdorferi* s.s. Вместе с тем большинство изолятов (85 %) от лю-

дей были идентифицированы как *B. afzelii*, 14% — как *B. garinii* и только 1% — как *B. burgdorferi sensu stricto*. При этом отсутствовали какие-либо значительные отличия в иммунном ответе пациентов, от которых были получены разные геновиды боррелий (Ružić-Sablji, 2005). Это наводит на мысль, которая заслуживает специальной проверки на большом клинико-лабораторном материале, о том, что между этиологической структурой природных очагов и этиологией заболеваний ИКБ может не быть полного соответствия. ДНК боррелий, выявленная в крови и моче больных ИКБ в г. Новосибирске, в 63,5% случаев принадлежала *B. garinii* NT29, в 11,1% положительных проб — *B. garinii* 20047, в 20,6% — *B. afzelii*; еще в 4,8% случаев была индцирована ДНК *B. garinii* NT29 и *B. afzelii* одновременно (Фоменко, 2006, 2006а). Поэтому не исключено, что *B. garinii* NT29 чаще, чем другие боррелии, может быть этиологическим агентом ИКБ не только в Пермском крае, но и в России в целом.

3.4.2. Жизненная схема боррелий

Существование *B. burgdorferi sensu lato* как и вируса КЭ (раздел 2.4.2) неразрывно связано с жизненной схемой иксодовых клещей — их основных переносчиков, но имеет и ряд существенных отличий, которые связаны с особенностями адаптации этих спирохет к внутренней среде клещей. Боррелии группы АКБ и ИКБ принципиально отличаются друг от друга по основным особенностям их диссеминации в организме своих специфических переносчиков, причем эти отличия принципиально важны для эпизоотологии и эпидемиологии вызываемых ими инфекций (Korenberg, 1994а; Коренберг, 1996). Спирохеты группы АКБ, как правило, не размножаются в кишечнике клещей *Ornithodoros*. Некоторые из них, проникнув вместе с инфицированной кровью в организм переносчика, проходят через кишечную стенку и попадают в гемолимфу клеща, где и происходит размножение спирохет. Затем они довольно легко проникают в различные органы клеща, включая слюнные железы и генеративные органы. Вследствие этого для аргасовых клещей, зараженных возбудителем АКБ, характерна генерализованная инфекция, обеспечивающая высокий уровень горизонтальной и вертикальной передачи спирохет этими переносчиками (Burgdorfer, 1951; Балашов, 1967, 1968 и др.).

В отличие от этого для спирохет группы ИКБ кишечник иксодовых клещей — нормальная среда их обитания, где они постоянно живут, размножаются и, по сути дела, могут быть отнесены к обычным симбионтам этих клещей (Коренберг, 1996). Их гемолимфа, напротив, не благоприятна для размножения *B. burgdorferi sensu lato*. Хотя генерализованная инфекция установлена у спонтанно и (или) экспериментально зараженных клещей *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*, она наблюдается значительно реже, чем при АКБ (Burgdorfer et al., 1983, 1985, 1988; Burgdorfer, 1984, 1989а, 1992; Barbour Heys, 1986; Matuschka, Spielman, 1986; Балашов, 1987; Zung et al., 1988; Monin et al., 1989; Gern et al., 1990; Yang et al., 1990; Korenberg et al., 1994). Соответственно гораздо реже, чем у арга-

совых клещей может происходить горизонтальная и вертикальная передача спирохет (раздел 3.4.3). В этой связи некоторые исследователи (Benach et al., 1987) даже высказывали неуверенность в самой возможности инокуляции ИКБ спирохет со слюной иксодовых клещей, которая, правда, довольно быстро отпала. Тем не менее дальнейшие исследования показали, что различным возбудителям группы ИКБ присущи определенные отличия в отношениях с их основным переносчиком (Korenberg, 1994a). Они, в частности, касаются судьбы боррелий в кишечнике клещей после начала кровососания и вероятности их проникновения в слюнные железы членистоногих в этот период.

Так, в слюнных железах голодных клещей *I. scapularis* — основных переносчиков *B. burgdorferi sensu stricto* в США — эти спирохеты встречаются довольно редко. Обычно они присутствуют в кишечнике зараженных клещей, а в слюнных железах появляются чаще всего не ранее чем через 48 часов после начала их питания (Benach et al., 1987; Piesman et al., 1987, 1991; Ribeiro et al., 1987; Burgdorfer, 1989; Piesman, 1993). Примерно сходные заключения сделаны и на основании экспериментов по заражению клещей *I. ricinus* (Gern et al., 1990). Однако у спонтанно зараженных голодных клещей *I. persulcatus* боррелий обнаруживают в слюнных железах значительно чаще, чем у *I. scapularis*. Насколько можно судить по результатам темнопольной микроскопии, через 24–72 часа после начала кровососания доля зараженных взрослых *I. persulcatus* с боррелиями в слюнных железах практически держится на одном уровне, а концентрация спирохет в слюнных железах голодных и питавшихся клещей практически не изменяется. Число боррелий в препаратах из кишечника через 24 часа после начала питания клещей остается примерно на том же уровне, что и у голодных *I. persulcatus*. Соотношение особей с различной концентрацией боррелий в кишечнике и слюнных железах, как и среднее число боррелий в кишечнике и слюнных железах, в первые дни после начала питания этих клещей практически не меняется. Все это свидетельствует о том, что миграция боррелий из кишечника клеща начавшего кровососание, в его слюнные железы, не является для *I. persulcatus* неизменным условием для их передачи со слюной. Частота такой передачи в первые дни после начавшегося насыщения взрослых клещей определяется главным образом исходной долей голодных особей с боррелиями в слюнных железах, т.е. с генерализованной инфекцией к моменту начала кровососания (Москвитина и др., 1995; Korenberg, Moskvitina, 1996). Методически тождественными сравнительными исследованиями показано, что при сходном уровне зараженности взрослых голодных *I. persulcatus* спирохетами *B. garinii* и *B. afzelii* в природных очагах России, а *I. scapularis* спирохетами *B. burgdorferi s.s.* на северо-востоке США генерализованная инфекция с наличием боррелий в слюнных железах клещей имеет место у *I. persulcatus* значительно чаще, чем у *I. scapularis* (Москвитина и др. 1995a). У *I. ricinus* в Центральной Европе системная (как ее называют за рубежом) или генерализованная инфекция встречается примерно у 5–6% зараженных взрослых клещей, что в 2–3 раза реже, чем у *I. persulcatus*. Наряду с другими факторами это проясняет причину меньшей

эффективности *I. ricinus* как переносчика боррелий в очагах ИКБ по сравнению с *I. persulcatus*. Чрезвычайно важно проследить, каким образом по ходу метаморфоза клещей формируется определенный уровень генерализованной инфекции взрослых особей (раздел 3.4.1).

Методом микроскопии у взрослых голодных *I. persulcatus* и *I. ricinus*, отловленных ранней весной боррелий удается обнаружить заметно реже, чем у собранных в более поздние сроки (Ковалевский и др., 1993; Alekseev et al., 1998). Это объясняется размножением спирохет в организме спонтанно и лабораторно инфицированных клещей после их активации. Оно происходит в широком диапазоне положительных температур (Наумов и др., 1998; Москвитина и др., 2002). В природе, как известно, ничего не происходит «просто так», и боррелии даже имеют «специальный» протеин (OspA), необходимый для успешной колонизации кишечника клеща (Pal et al., 2006). Возникает вопрос: зачем размножение в организме взрослых клещей нужно бактериям, если «боррелии, перешедшие от заразившейся при питании нимфы к имаго, оказываются в тупике», как полагает Р.Л. Наумов с соавторами (1998, С. 419). Ответ на этот вопрос подсказывают данные, согласно которым чем выше концентрация боррелий в кишечнике взрослых голодных клещей, тем больше среди них доля особей с этими спирохетами в слюнных железах (Москвитина и др., 1995). Проникновение боррелий в слюнные железы клеща может происходить не только во время перелинивания зараженной нимфы в имаго, о чем говорилось выше, но и после этого, уже непосредственно в организме самого взрослого клеща при определенной пороговой концентрации спирохет в его кишечнике. Этому процессу способствует длительное (минимум 6 дней) насыщение взрослых клещей на естественных прокормителях (Балашов, 1967). Вскоре после начала кровососания у взрослых таежных клещей начинается миграция боррелий с поверхности клеток кишечника в область лабиринта его базальной мембраны, которая становится интенсивной через 2,5 суток. Этот процесс продолжается диссеминацией боррелий в другие внутренние органы клеща, т.е. генерализацией инфекции, причем миграция спирохет происходит по межклеточным пространствам и, по всей видимости, через разные типы клеток клеща (Zung et al., 1989; Балашов и др., 1997). Таким образом, питание зараженных клещей стимулирует дополнительное или «вторичное» (если это выражение уместно) проникновение боррелий в их слюнные железы, что способствует передаче возбудителя позвоночным — хозяевам членистоногих. В этой связи нельзя не отметить, что роль последних в эпизоотологии ИКБ изучена еще очень поверхностно, и распространенное мнение, согласно которому эти животные не вовлекаются в процесс циркуляции боррелий в природных очагах, во многом представляется умозрительным.

3.4.3. Вертикальная и горизонтальная передача боррелий

Сочетанием различных методов, включая микроскопию, попытки изоляции боррелий и ПЦР показано, что спонтанно зараженные самки *I. persulcatus* после

насыщения способны инфицировать яйца. Из средней кишки клеща они мигрируют по межклеточным пространствам эпителиального пласта и обнаруживаются в клетках эпителия яичника и ооцитах, причем как до начала вителлогенеза, так и на его ранних этапах (Амосов, 2000). Геномный материал *B. burgdorferi* s.l. присутствовал примерно в 0,4–23 % яиц из различных кладок таких самок. Однако у личинок, вылинявших из яиц, ДНК боррелий, как правило, по неясным пока причинам отсутствовала (Нефедова и др., 2001, 2002; Nefedova et al., 2004). Хотя в редких случаях разными методами у голодных личинок *I. persulcatus* (Du et al., 1990; Yong et al., 1990; Горелова и др., 2004), *I. ricinus* (Krampitz, 1986; Stanek et al., 1986, Hubalek and Halouzka, 1998; Hammer et al., 2002; Younsi et al., 2001), *I. scapularis* (Bosler et al. 1983, Piesman et al. 1986), а также *Amblyomma americanum* (Schulze et al., 1986) удается обнаружить боррелии, тем не менее, данные, приведенные выше, позволяют считать, что трансвариальный путь передачи боррелий у важнейшего в Евразии переносчика — таежного клеща практически не имеет заметного значения в поддержании их циркуляции и формировании уровня зараженности взрослых клещей следующей генерации. Этот вывод полностью согласуется с представлениями ряда других исследователей о значении трансвариальной передачи в эпизоотологии ИКБ (Nakao and Miyamoto, 1993; Talleklint and Jeanson, 1994 др.) в противоположность исследователям (Балашов и Григорьева, 1997; Балашов и др., 1997, 1998, 1998а; Григорьева, Третьяков, 1998; Дубинина, 2000), которые обнаруживают боррелий почти у 100 % (!) потомства инфицированных самок практически у всех голодных личинок, снятых с мелких млекопитающих, и придают этому феномену неоправданно большое значение.

Поскольку трансвариальная передача боррелий практически не способствует их вертикальной передаче, совершенно очевидно, что голодные личинки не могут заразить своих прокормителей. Следовательно, горизонтальная передача происходит только в одном направлении: от резервуарных хозяев этих спирохет личинкам в процессе их питания. Это положение подтверждается следующими данными: путем посева 593 голодных личинок, собранных на стационаре в Пермской области, пулами по 5–10 особей (всего 62 пула) удалось получить только 1 изолят, а от 213 кормящихся личинок, снятых с мелких млекопитающих и исследованных индивидуально — 66 изолятов (т.е. их зараженность была $31,0 \pm 6,3\%$ (Горелова и др., 2004). Возможность трансфазовой передачи *B. burgdorferi* показана у клещей *I. ricinus*, *I. scapularis* и некоторых других видов (Krampitz, 1986; Stanek et al., 1986; Lane, 1987). Экспериментально установлено, что почти все личинки (как и нимфы) *I. persulcatus*, получившие возбудителя при инфицирующем кормлении, сохраняют его после линьки, а передача боррелий от зараженных личинок нимфам происходит в 70–80 % случаев. Сразу после линьки зараженными были около 50 % нимф, причем эта доля, как и обилие боррелий в клещах, практически не менялись на протяжении 100 суток. На 140–150 день после 2-месячной «зимовки» при разных температурных условиях отмечено нарастание обилия (т.е. размножение) спирохет в клещах (Наумов и др., 1998).

Спонтанная зараженность боррелиями еще не питавшихся взрослых голодных клещей уже сама по себе свидетельствует о возможности получения спирохет от нимф в процессе их метаморфоза. Высокая зараженность имаго (раздел 3.4.4) может быть следствием легкой чисто вертикальной передачи боррелий от одной фазы развития к другой по ходу метаморфоза клещей в целом или результатом передачи нимфами боррелий, полученных ими главным образом при насыщении на естественных прокормителях. Путем кормления спонтанно зараженных нимф *I. persulcatus* на невосприимчивых к боррелиям лабораторных животных выяснено, что в принципе вертикальная передача (от нимф к имаго) этих спирохет возможна без дополнительного заражения нимф от прокормителей. Однако такая передача не обеспечивает показателей зараженности имаго, соизмеримых с ее естественным уровнем (Коренберг и др., 1988; Наумов и др., 1998). Поэтому в природе очевидно происходит весьма значительное «подзаражение» нимф при их питании на резервуарных хозяевах, причем коэффициент вертикальной передачи боррелий от таких нимф при их метаморфозе половозрелым клещам близок к 100 % (Наумов и др., 1998). Таким образом, нимфальная гемипопуляция клещей — это «ключевое» звено, обеспечивающее существование паразитарных систем ИКБ, причем не только в Евразии, но и в США (Piesman, 2002). Обмен боррелиями между взрослыми клещами, по данным некоторых исследователей (Aleksseev, Dubinina, 1995, 1996; Aleksseev et al., 1999; Dubinina, 2000), может происходить половым путем или при омовампиризме, однако это вряд ли может иметь заметное эпизоотическое значение.

3.4.4. Зараженность и индивидуальная инфицированность клещей

Для природных очагов ИКБ характерна высокая зараженность боррелиями взрослых голодных клещей *I. persulcatus*, *I. ricinus* и *I. scapularis* (Burgdorfer et al., 1982, 1983; Коренберг и др., 1988; Gern et al., 1990 и др.). Она, как правило, выше, чем аналогичные показатели для большинства других инфекций, возбудители которых передаются членистоногими. У взрослых *I. ricinus* ее обычный уровень — до 20–25 %, но в некоторых природных очагах он может достигать до 40 % и более. Зараженность эпизоотически и эпидемически значительно более активного переносчика — клеща *I. persulcatus* местами превышает 50 %. По всей видимости, боррелии — нормальные симбионты клещей, обитающие чаще всего в их кишечнике. Лишь у части голодных особей происходит генерализация с проникновением боррелий в полость тела, гонады и слюнные железы. Такие членистоногие принимают наиболее активное участие в поддержании их естественной циркуляции (раздел 3.4.2).

Показатели зараженности взрослых *I. persulcatus* и *I. ricinus* боррелиями в различных регионах России по данным темнопольной микроскопии повсеместно довольно велики (Korenberg et al., 2002; Коренберг и др., 2002). Однако по опубликованным данным складывается впечатление, что в целом несколько

большая зараженность клещей *I. persulcatus* характерна для Уральского (18,4–60,8%), Западно-Сибирского (11,9–58,3%) и, возможно, Дальневосточного (41,4% культуральным методом) регионов (Смирнова и др., 1996; Sato et al., 1996; Korenberg et al., 2002). Зараженность клещей *I. ricinus* как в одной и той же области, так и в целом заметно меньше, чем клещей *I. persulcatus* (Korenberg et al., 2001, 2002). Например, среднемноголетняя зараженность *I. ricinus* в Ленинградской области — около 21%, а *I. persulcatus* — примерно 34% (Ковалевский и др., 1993; Kovalevskii and Korenberg, 1995); в Московской области — соответственно 5,6–35,2% и 20,0–48% (Алексеев, 1993). Показатели зараженности самок и самцов в популяциях клещей этих двух видов обычно очень близки (Wilske et al., 1987; Hubalek et al., 1990; Rehaček et al., 1991; Ковалевский и др., 1993 и др.). Вывод о том, что при совместном обитании *I. persulcatus* и *I. ricinus* «экстенсивность заражения последнего повышается в 3–4 раза, а частота нахождения зараженных *I. ricinus* по сравнению с территориями, свободными от *I. persulcatus*, увеличивается в 9 раз» (Алексеев и др., 1993. С. 389) сделан по совершенно не репрезентативным данным (Васильева, Наумов, 1996) и не подтверждается накопившимися материалами по разным регионам (Korenberg et al., 2002). Сезонные и годовые изменения численности взрослых клещей, как в Центральной Европе (Rehaček et al., 1991), так и на Северо-Западе и в других регионах России не оказывают заметного влияния на показатели их зараженности, и в целом она остается достаточно стабильной (Ковалевский и др., 1993; Kovalevskii and Korenberg, 1995; Коренберг и др., 2002; Korenberg et al., 2002a).

Зараженность голодных нимф *I. persulcatus*, собранных с растительности в лесах Среднего Урала и исследованных путем индивидуального посева на питательную среду, оказалась равной $25,4 \pm 8,2\%$, а кормящихся нимф, снятых с резервуарных хозяев — $53,3 \pm 11,5\%$ (Горелова и др., 2004). Зараженность боррелиями взрослых голодных клещей *I. pavlovskiyi* ($35,7 \pm 12,8\%$), собранных в биотопе в окрестностях г. Томска, где они доминировали, и исследованных тем же методом, оказалась даже выше, чем *I. persulcatus* ($30,0 \pm 13,0\%$) из другого биотопа с преобладанием клещей этого вида (Korenberg et al., 2010). По многолетним данным в лесах Среднего Урала средняя зараженность боррелиями личинок, нимф и имаго *I. trianguliceps* составила 2,6, 10,2 и 8,1%, соответственно. Эти значения в 5–10 раз ниже показателей зараженности предимагинальных фаз таежного клеща, собранных со зверьков (Ковалевский и др., 2013).

Индивидуальная инфицированность взрослых голодных клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*, оцененная по числу боррелий на 100 полей зрения в витальных и фиксированных препаратах (просмотрены в темном поле микроскопа при общем увеличении $\times 600$) колеблется в широких пределах: максимальный уровень инфицированности больше минимального в 700–1300 раз (Ковалевский и др., 1988, 1991; Левин и др., 1993; Kovalevskii and Korenberg, 1995). Средняя инфицированность *I. persulcatus* примерно в 1,5 раз выше, чем *I. ricinus* в том же регионе, а самок обоих видов во столько же раз больше, чем самцов. В целом в популяциях этих кле-

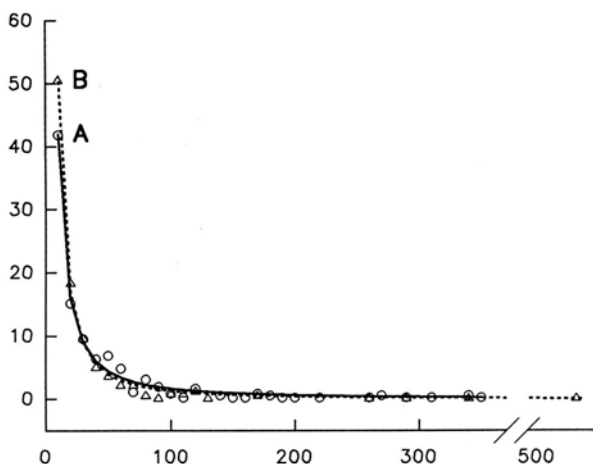


Рис. 3.5. Доля взрослых голодных клещей с различным содержанием боррелий в кишечнике среди 344 инфицированных *I. persulcatus* (A) и 286 *I. ricinus* (B), отловленных в природном очаге (Ленинградская область). Абсцисса — число боррелий на 100 полей зрения при темнопольной микроскопии витальных препаратов; ордината — % клещей с определенным уровнем индивидуальной инфицированности (Kovalevskii and Korenberg, 1995).

щей среди зараженных взрослых особей до начала их питания преобладают слабо инфицированные (рис. 3.5). Различия в степени инфицированности зараженных клещей, по всей видимости, один из важных факторов, определяющих скорость и саму возможность «вторичной» генерализации инфекции в их организме после начала питания (раздел 3.4.2).

3.4.5. Особенности модели эпизоотического процесса

Схема циркуляции спирохет группы ИКБ в природе, основанная на цикле развития иксодовых клещей-переносчиков и смене их хозяев по ходу метаморфоза, в общих чертах уже вполне ясна (Eisen and Lane, 2002; Балашов, 2009 и др.). Один из ее вариантов приведен на рис. 3.6. Однако несмотря на представления о жизненной схеме боррелий (раздел 3.4.2), о значении их вертикальной и горизонтальной передачи в эпизоотическом процессе (раздел 3.4.3), а также накопленные результаты многолетних наблюдений за динамикой лоймопотенциала природных очагов (Ковалевский и др., 1993; Kovalevskii and Korenberg, 1995; Коренберг и др., 2002; Korenberg et al., 2002, 2002a), репрезентативных фактических данных еще недостаточно для построения даже упрощенной количественной схемы циркуляции этих спирохет. Из-за применения совершенно разных по специфичности в отношении боррелий методов их выявления не сняты принципиальные противоречия в оценке значения их трансвариальной передачи. В отличие от некоторых исследователей (Балашов, 2009 и др.) мы не придаем этому феномену

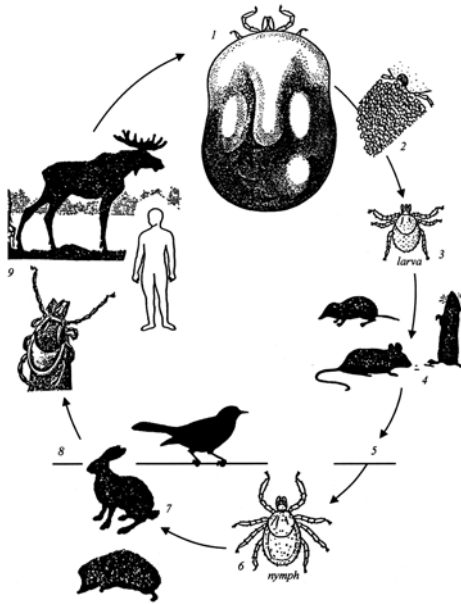


Рис. 3.6. Схема циркуляции *B. afzelii* и *B. garinii* в таежных природных очагах (Балашиов, 2009 с изменениями в подписи к рисунку).

1 — инфицированная боррелиями напитавшаяся самка; 2 — яйца клеща; 3 — голодная личинка; 4 — питание личинки на мелких млекопитающих, возможность инфицирования личинки; 5 — линька напитавшейся личинки в почве и трансфазовая передача боррелий нимфам; 6 — голодная инфицированная нимфа; 7 — питание нимф на различных млекопитающих, включая средних и крупных (реже на птицах), возможность передачи боррелий хозяевам, а также инфицирования и реинфицирования нимф; 8 — линька напитавшихся нимф в почве и трансфазовая передача боррелий взрослым клещам; 9 — питание инфицированных взрослым клещей (имаго) на средних и крупных млекопитающих и вероятность их инфицирования.

сколько-нибудь заметного значения в эпизоотологии ИКБ. Поэтому в подписи к рис. 3.6 сделаны соответствующие коррективы.

Простейшая количественная модель сохранения боррелий по ходу цикла развития одной генерации клещей, по всей видимости, будет существенно отличаться от таковой для вируса КЭ гораздо меньшим числом инфицированных яиц в яйцепродукции генерации, зараженных яиц после гибели яйцекладок, отсутствием или почти полным отсутствием зараженных голодных личинок (рис. 2.8, позиции 3а–5а). С другой стороны, поскольку у мелких млекопитающих-резервуарных хозяев боррелий, инфекционный процесс имеет хронический характер (как и при некоторых других природноочаговых спирохетозах, например при лептоспирозах), они способны длительно, видимо пожизненно, быть источником возбудителя для прокармливающихся на них предимагинальных фаз развития иксодовых клещей. Поэтому значительно больше, чем при КЭ, должно быть зараженных накормившихся личинок, инфицированных голодных и накормившихся нимф, а также голодных имаго и взрослых клещей новой генерации (рис. 2.8, позиции 6а–10а), что и наблюдается в действительности.

3.5. Эпидемиология

3.5.1. Источники, механизм и пути передачи возбудителя

ИКБ — классические природноочаговые трансмиссивные инфекции, возбудители которых передаются человеку иксодовыми клещами. В Евразии — это

таежный (*I. persulcatus*) и лесной (*I. ricinus*) клещи (раздел 3.4.1). Клещи этих же двух видов, как и при КЭ, — источники возбудителей ИКБ для человека. У *I. persulcatus* на людей нападают главным образом (до 98 % случаев) взрослые особи, а у *I. ricinus* — нимфы и взрослые клещи (Коренберг, Ковалевский, 1981; Korenberg et al., 2001). Достоверные сведения о сколько-нибудь заметном эпидемическом значении других видов иксодовых клещей или других групп переносчиков, а также о возможности заражения людей любым другим путем, кроме трансмиссивного, отсутствуют. Изменения заболеваемости ИКБ и КЭ в определенном регионе по годам имеют сходную направленность. Это свидетельствует о том, что главные биологические и социальные факторы, определяющие интенсивность эпидемического проявления природных очагов ИКБ и КЭ, очень близки (Коренберг и др., 1990). Поэтому, как уже говорилось в начале раздела 3, основные черты эпидемиологии ИКБ в Евразии, включая их распространение, локализацию природных очагов, весенне-летнюю сезонность эпидемического проявления, которая обусловлена периодом активности переносчиков, причины и особенности контакта населения с очагами, определяющие демографическую структуру заболеваемости и др., сходны с таковыми при КЭ (раздел 2.5). Это не исключает возможных отличий в многолетней динамике лоймопотенциала очагов и заболеваемости, что может быть связано, прежде всего, с особенностями экологии возбудителей (Коренберг, Яфаев, 1989; Коренберг и др., 1990; Korenberg et al., 1993; Korenberg, 1994).

Люди заражаются при инокуляции возбудителя со слюной клеща, если его слюнные железы содержат боррелий (раздел 3.4.2), причем первые же порции слюны, выделяемые клещом сразу после его прикрепления, могут содержать достаточную для инфицирования дозу возбудителя. Зараженность боррелиями голодных взрослых клещей *I. persulcatus*, отловленных на растительности и снятых с людей, практически идентична (Korenberg et al., 2001). От больного человека здоровому возбудитель инфекции не передается, за исключением возможности трансплацентарной передачи боррелий, которая достоверно установлена для возбудителей ИКБ на определенном этапе беременности (Schlesinger et al., 1985; Smith et al., 1991 и др.). Вопрос о значении этого феномена, который известен и для других спирохетозов (Felsenfeld, 1971; MacDonald, 1986; Williams, Strobino, 1990 и др.) и его последствий для патологии беременности, а также здоровья ребенка в постнатальном периоде, возникает в связи с заболеваниями совсем маленьких детей (раздел 3.5.2) и остается пока очень мало изученным (Елсукова и др., 1994).

3.5.2. Восприимчивость людей; причины и интенсивность их контакта с природными очагами

Восприимчивость людей, по всей видимости, очень высокая, а возможно и абсолютная. Болеют как сельские, так и городские жители, причем доля горожан в структуре заболеваемости, как и при КЭ, очень высока. Заболевания регистрируются среди всех возрастных групп населения, но чаще болеют взрослые трудо-

способные люди (20–59 лет), на долю которых обычно приходится более половины всех случаев. Сравнительно большая группа заболевших (17–20%) — это дети дошкольного и школьного (до 14 лет) возраста, причем в некоторых регионах 2–3% случаев приходится на 1–2-летних детей, тогда как КЭ в таком раннем возрасте не встречается или бывает значительно реже (Коренберг и др., 1991). Социальный и профессиональный состав заболевших и причины их контакта с природными очагами те же, что при КЭ (раздел 2.5.2).

Эпидемическое проявление природных очагов ИКБ степени определяется их лоймопотенциалом и частотой контактов населения с ними (рис. 1.2). Уже первые скрининговые серолого-эпидемиологические исследования, проведенные в одном из районов, который занимал ведущее место по заболеваемости в Ленинградской области, показали, что частота контакта сельского населения, занятого в основном в сфере сельскохозяйственного производства, с природными очагами ИКБ выглядит достаточно внушительно. Около 90% жителей ранее по тем или иным причинам (прогулки, сбор ягод, грибов и т.п.) посещали окружающие леса, причем во всех возрастных группах этот показатель практически был почти одинаков. Более 66% обследованных (от 53–60% в старших возвратных группах, до 77–87% молодежи до 20 лет) были в лесу в последние весенне-летние месяцы и следовательно подвергались риску нападения клещей непосредственно в завершившемся накануне исследования сезоне их активности. Реально на контакт с клещами (наползание, присасывание) в этот период указали около 12% опрошенных. Число лиц, которые когда-либо в предшествующие годы снимали с себя клещей, оказалось, естественно, больше (от 20–30% в младших возрастных группах до 35–50% в старших). В общей сложности почти у 4% жителей, которые проживали в обследованных населенных пунктах от 6 месяцев до 59 лет (в среднем — 23 года) в НРИФ обнаружены антитела к возбудителям ИКБ в титрах, которые с высокой степенью достоверности отвечали требованиям скрининг-титра. В тот же период контакт с клещами жителей Санкт-Петербурга, предшествовавший их заболеваниям, в основном (81%) происходил на территории Ленинградской области, а также (7,4%) в пригородных районах, где были расположены основные массивы садово-огородных участков. Среди обследованных работников лесхозов Литвы около 16% оказались с антителами (Мотеюнас и др., 1989; Коренберг и др., 1990; Антыкова и др., 1993). В США уровень зараженности клещей *I. scapularis* боррелиями на эндемичных по болезни Лайма, но дезъюнктивных территориях Северо-Востока и Среднего Запада практически идентичен, а заболеваемость, при сходстве возбудителей, в первом из этих регионов почти вдвое больше, чем во втором. В отсутствие детальных эпидемиологических данных такую ситуацию объясняют различиями в экологии животных и поведении людей (Brisson et al., 2010), в которых в конечном счете кроются различия в интенсивности их контакта с природными очагами.

В различных ландшафтных подзонах Пермского края при повсеместно практически одинаковой частоте посещения леса населением, судя по показателям частоты присасывания клещей и параметрам иммунной прослойки, наибольший контакт

с возбудителями ИКБ, и следовательно риск заражения, имеет население южной тайги, хвойно-широколиственных лесов и лесостепи (табл. 3.5). При этом высокая теснота связи прослеживается между рядами цифр, характеризующими уровень покузанности населения клещами и долю сывороток с антителами (коэффициент корреляции $r = 0,98$) или среднеголетними показателями заболеваемости ($r = 0,8$).

Таблица 3.5. Частота контактов человека с клещами и возбудителями ИКБ в различных ландшафтно-географических подразделениях Пермской области (Алыпova и др., 2002).

Ландшафтные подразделения	% людей, посещавших лес	% людей, заметивших присасывание клеща	% сывороток с титром 1:20 или выше	Среднегеометрический титр антител для положительных сывороток	Среднеголетний показатель заболеваемости на 100 000 человек
Средняя тайга	90,8 ± 3,7	17,2 ± 4,8	9,2 ± 3,7	1:12,1	4,84
Южная тайга	88,1 ± 4,9	41,3 ± 2,9	27,2 ± 2,6	1:24,2	16,27
Хвойно-широколиственные леса	84,0 ± 4,2	39,3 ± 5,6	22,9 ± 4,6	1:22,6	13,51
Лесостепь	88,1 ± 3,8	38,1 ± 5,7	26,2 ± 5,2	1:19,7	8,99
Горная тайга	88,6 ± 3,3	24,9 ± 4,5	12,7 ± 3,5	1:17,1	11,32

Расчеты, основанные на репрезентативных данных о частоте нападения тяжелых клещей на жителей г. Пермь и на показателе зараженности этих переносчиков боррелиями, свидетельствуют о том, что в пересчете на 100 тысяч человек с клещами, содержащими возбудитель заболевания в кишечнике, в течение одного сезона контактируют примерно от 240 до 735 (в среднем — около 400) человек. Поскольку далеко не все голодные клещи в момент нападения содержат боррелий в слюнных железах (раздел 3.4.2), а более 88% людей обнаруживают и удаляют их в первые сутки после прикрепления, заражения ИКБ происходят лишь в части таких случаев (Korenberg et al., 1994, 2001).

3.5.3. Заболеваемость

Сезонность. Практически не отличается от таковой при КЭ (раздел 2.5.3).

Годовой уровень и его изменения. В последнее десятилетие XX в. показатели заболеваемости ИКБ увеличились во всех странах, где они распространены. В США к 2003 г. Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC) было зарегистрировано в общей сложности более 100 000 случаев болезни Лайма в 49 штатах (от 20 до 100 случаев на 100 тыс. человек). В последнее время в США бывает примерно 20 тыс. заболеваний в год (Nadelman and Wormser, 2007). В Европе наиболее высокие

показатели заболеваемости отмечены в этот период в ее центральной части (в Германии, Австрии, Словении) и в Скандинавии (в Швеции). В Австрии и Словении отмечено 130 случаев на 100 тыс. человек (Stanek et al., 1993; Sigal et al., 1998; Hengge et al., 2003). В первую очередь это объясняется улучшением их диагностики.

Уже по первым эпидемиологическим данным, полученным в России, стало понятно, что ИКБ для нашей страны — отнюдь не спорадические инфекции. Было высказано предположение, которое вскоре полностью подтвердилось (рис. 1.3), что по уровню заболеваемости ИКБ опередят КЭ, твердо займут ведущее место среди инфекций, возбудители которых передаются клещами, и одно из ведущих мест среди всех природноочаговых зоонозов (Коренберг, Яфаев, 1989; Коренберг и др., 1990, 1991).

До 1991 г. заболевания группы БЛ вообще отсутствовали в официальном списке нозологических форм, встречающихся в России. В 1992 г. клещевой боррелиоз (БЛ) включили в форму ежемесячной и годовой статистической отчетности по инфекционным заболеваниям (раздел 3.1). Но было уже совершенно ясно (раздел 3.1), что до этого ИКБ были широко распространены в лесной зоне и, скорее всего, в остром периоде диагностировались как легкие формы ИКБ. В этой связи проведен ретроспективный анализ первичных архивных клинико-анамнестических и лабораторных данных о заболеваниях, выявленных в Удмуртии в 1965–1968 гг. и в 1983–1987 гг., связанных с укусом пациентов таежными клещами. Он показал, что не менее 27 % диагнозов КЭ или заболеваний неясной этиологии в 60-е годы и 30 % в 80-е годы может быть отнесено к ИКБ (рис. 3.7), причем многолетняя динамика заболеваемости, как и их распространение по территории, в эти периоды оказалась сходной (Лихачева, Коренберг, 2001, 2003; Лихачева и др., 2003). На основе этих и некоторых других данных подсчитано, что

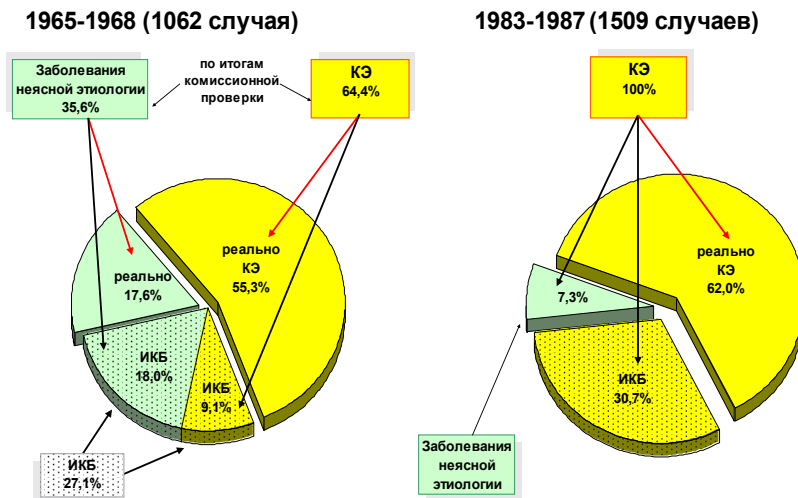


Рис. 3.7. Результаты ретроспективного анализа заболеваний, возникших после укуса таежного клеща в Удмуртии (Коренберг, Лихачева, 2004; Korenberg, Likhacheva, 2006).

официальные показатели КЭ в стране до 1995 г. были завышены за счет случаев ИКБ не менее чем в 1,2–1,6 раза (Коренберг, Лихачева, 2004; Korenberg, Likhacheva, 2006). К этому моменту клинико-серологическая диагностика ИКБ была налажена практически во всех субъектах РФ, и эти инфекции перестали заметно влиять на статистику заболеваний КЭ в стране (рис. 2.17).

Возвращаясь к сведениям об ИКБ за 1991 г., которые были получены санэпид-службой по инициативе Л. М. Ивановой и Э. И. Коренберга до введения официальной статистики, следует подчеркнуть, что они характеризуют лишь самый начальный этап работы по выявлению и диагностике этих заболеваний: из 1002 случаев (табл. 3.6) 425 (42%) выявлены в Ленинградской и Пермской областях, где первые в стране широкие диагностические исследования были организованы непосредственно лабораторией переносчиков инфекций НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН (Коренберг, 1993б). Данные о числе случаев, которые представлены в этой таблице, несомненно далеко не полно (особенно в восточных регионах страны) отражали истинный уровень заболеваемости ИКБ в эти годы. В целом они свидетельствовали, разумеется, не о росте заболеваемости, а о существенном улучшении ее диагностики, которое произошло в эти годы. Тем не менее, с 1993 г. показатели заболеваемости ИКБ стали изменяться аналогично годовым показателям заболеваемости КЭ (раздел 2.5.3). Это означало, что, во-первых, статистические данные по ИКБ при всей их очевидной неполноте начали в какой-то мере отражать истинные изменения общего уровня заболеваемости, которые обусловлены динамикой естественных биоценологических процессов в природных очагах, а, во-вторых, по выявляемому уровню заболеваемости ИКБ уже заняли одно из ведущих мест среди природноочаговых зоонозов. К 1996–2000 гг. число ежегодно выявляемых случаев в стране дошло примерно до 8,5 тыс. (до 5,9 на 100 тыс. человек), сблизилось с аналогичной цифрой по клещевому энцефалиту и затем продолжало увеличиваться.

Таблица 3.6. Заболеваемость ИКБ в России в 1991–1999 гг.
по официальным статистическим данным (Коренберг, 2003а).

Год	Абс. число случаев	Показатель заболеваемости на 100 тыс. человек
1991	1002	0,7
1992	2477	1,7
1993	5137	3,5
1994	4029	2,7
1995	3765	2,5
1996	8117	5,5
1997	6872	4,7
1998	8606	5,9
1999	8470	5,8

Данные, полученные в Ленинградской, Костромской, Ярославской, Кировской, Тюменской, Томской и некоторых других областях показали, что при налаженной клинико-лабораторной диагностике обычно выявляется значительно больше заболеваний ИКБ, чем КЭ; это связано в первую очередь с повсеместным более высоким уровнем зараженности клещей-переносчиков боррелиями, чем вирусом (раздел 3.4.4). Рейтинг регионов по числу заболеваний ИКБ в целом приближался к ситуации по КЭ: наибольшее число случаев приходилось на Урал, Западную Сибирь и Волго-Вятский регион. В 2000 г. в целом в России впервые случаев ИКБ было выявлено больше (примерно на 1,5 тыс.), чем КЭ. На основании анализа накопившихся к этому времени фактов о регистрируемой заболеваемости оказалось возможным прогнозировать, что ежегодно в России может быть не менее (а в некоторые годы значительно более) 10–12 тыс. свежих случаев ИКБ (Korenberg, 1995; Коренберг, 1996а; 1999). К настоящему времени этот прогноз уже почти подтвердился (рис. 3.7): в 2011 г. в России по официальной регистрации было 9957 случаев ИКБ или 7,02 на 100 тыс. человек, что в 2,8 раза больше, чем заболеваний КЭ (3544 случая, или 2,5 на 100 тыс. человек).

Территориальное распределение. В пределах российской части нозоареала ИКБ основное число заболеваний (в сумме 65–70% от общего числа регистрируемых) приходится всего на 15 субъектов РФ от Костромской области на западе страны до Приморского края на Дальнем Востоке (рис. 3.8). Из них примерно 20% приходится на Вятско-Камское междуречье и Предуралье (Удмуртия,

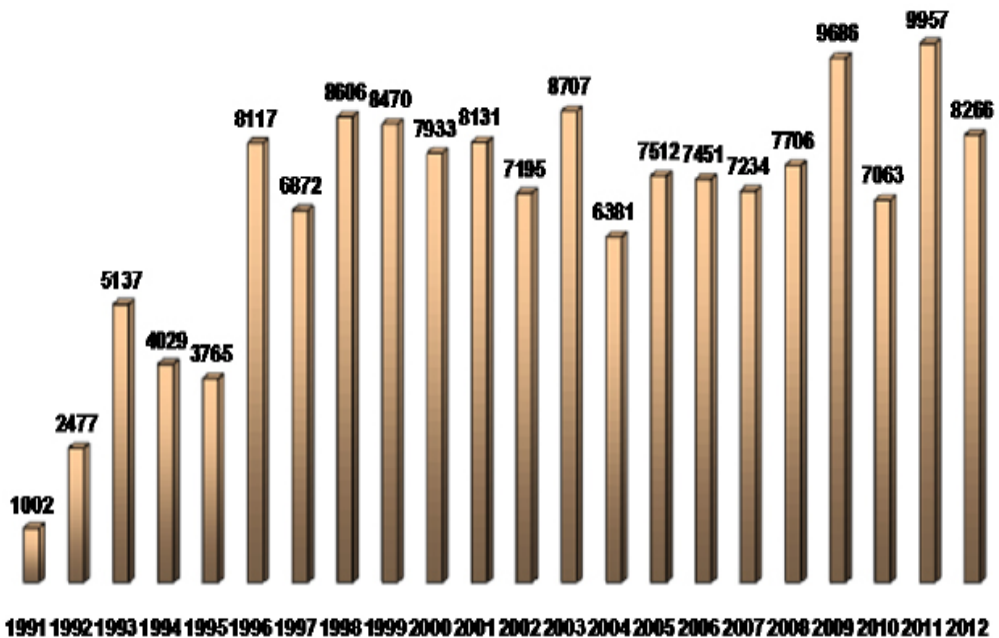


Рис. 3.8. Число случаев ИКБ в России по официальным статистическим данным.

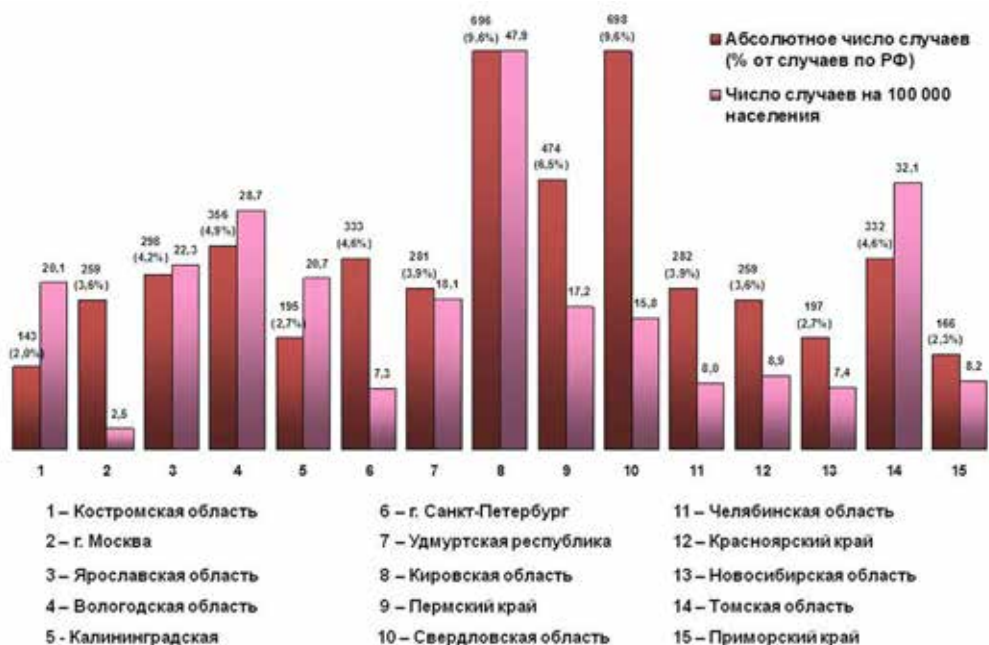


Рис. 3.9. Наиболее высокие показатели заболеваемости ИКБ в субъектах РФ в 2007 г.

Кировская обл. и Пермский край), до 15% — на Урал (Свердловская и Челябинская обл.) и немногим более 10% — на Сибирь (Красноярский край, Новосибирская и Томская обл.). Во всех этих, как и во многих других субъектах РФ, сейчас выявляют в 1,5–3 раза больше заболеваний ИКБ, чем КЭ, а в ряде северо-западных и центральных областей (Вологодской, Калининградской, Псковской, Ленинградской и г. Санкт-Петербурге, Костромской, Ярославской), где природные очаги этих инфекций во многом связаны с *I. ricinus*, а заболеваний КЭ всегда гораздо меньше, чем в более восточных областях, несмотря на сравнительно небольшое число случаев ИКБ, их больше даже в 5–20 раз. В этой связи, если в том или ином регионе заболеваний ИКБ выявляют меньше, чем КЭ (например, в Республиках Алтай, Тыва, Хакассия), это сейчас уже можно воспринимать как «маркер» неблагоприятия клинико-лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Вместе с тем должна настораживать другая ситуация, когда по официальным статистическим данным случаев ИКБ существенно больше, чем КЭ в той же области и при примерно сходных условиях в соседних областях. Так, в Пермском крае в 2008 г., например, заболеваний ИКБ было в 2,6 раза, в Челябинской области — в 1,5 раза, а в Свердловской по необъяснимым причинам — в 4,5 раза больше, чем КЭ. Это свидетельствует о том, что нельзя исключить некоторую гипердиагностику ИКБ за счет гиподиагностики КЭ.

Распределение заболеваний ИКБ по территории того или иного субъекта РФ обычно совпадает с таковым при КЭ (Алыпova и др., 2002; Лихачева и др., 2003).

3.6. Клинические проявления

ИКБ — типичные спирохетозы, которые имеют ряд клинико-патогенетических особенностей, присущих этим инфекциям: способность возбудителя длительно персистировать в организме, поражая различные системы и органы, вследствие чего формируются хронические формы заболевания, а также стадийность инфекционного процесса. В развитии заболевания могут быть три последовательные стадии, отражающие патогенетическую сущность возможного полного инфекционного процесса: 1) локализованная стадия, для которой в значительной части случаев характерно поражение кожи в месте присасывания клеща, сопровождающееся развитием мигрирующей эритемы; 2) диссеминированная стадия, во время которой происходит распространение возбудителя с кровотоком и его локализация во внутренних органах различных систем, сопровождающаяся развитием общеинфекционного синдрома и клиническими проявлениями со стороны висцеральных органов; 3) персистентная стадия, возникающая при длительном присутствии боррелий в организме, вследствие которого наблюдается хроническое течение заболевания с системной органной патологией (Brade, Kraiczu, 1999; Лобзин, 2000а; Коренберг и др., 2007). Для возникновения любой стадии заболевания и соответствующих ей клинических проявлений необходимо присутствие живого возбудителя в организме пациента.

После инокуляции со слюной клеща возбудитель несколько дней локализуется в месте его внедрения, адаптируясь к условиям существования в организме теплокровного хозяина. Боррелии связываются с коллагеновыми волокнами внеклеточного матрикса. Однако возбудители ИКБ прикрепляются не к коллагену, а напрямую к декорину (небольшому богатому лейцином протеогликану), связанному с коллагеновыми волокнами. Функцию адгезинов выполняют два декорин-связывающие протеина (DbpA и DbpB) и фибронектин-связывающий протеин BVK32, которые локализованы на наружной мембране боррелий. Важная роль в патогенезе принадлежит протеинам OspA и OspB, которые способствуют их аттезии на клетках тканей хозяина. Определенную функцию факторов вирулентности выполняют Egr-протеины, в частности OspE и OspF, которые, по всей видимости, имеют отношение к процессу взаимодействия возбудителя с тканями позвоночных. Кроме того, протеины семейства Egr связывают фактор H комплемента позвоночных, а рекомбинация генов, кодирующих Egr-антигены, содействует уклонению спирохет от иммунного ответа животного. Этот этап частично соответствует продолжительности инкубационного периода. Затем в 55–80 % случаев у пациентов развивается кожное воспаление, клинически проявляющееся мигрирующей эритемой. В первые 2 недели от начала заболевания в области эритемы развивается экссудативно-продуктивное воспаление, а в более отдаленные сроки (через 4–5 недель) — продуктивное с явлениями атрофии. Это связано с размножением боррелий в эпидермисе и верхней части дермы на периферии эритемы. Токсические продукты, вырабатываемые *B. burgdorferi sensu lato* на начальной стадии инфекционного процесса, не распознаются макроорганизмом, что позволяет бактериальным клеткам мигрировать из ме-

ста первичной локализации и осуществлять адгезию на клетки-мишени различных тканей хозяина, причем в 20–45 % случаев возбудитель попадает в кровь без изменений со стороны кожи (безэритемная форма). Происходит сравнительно непродолжительная боррелиемия, способствующая генерализации инфекции. Боррелии через гематоэнцефалитический барьер проникают в ЦНС, а также в другие органы и ткани. Поражаются в основном мезенхимальные и ретикулоэндотелиальные ткани, в результате чего развиваются васкулиты, с выраженными лимфогистиоцитарными инфильтратами в сердце, печени, суставах, оболочках мозга и корешках спинальных нервов. При повторном гематогенном заносе возбудителя в кожу могут появляться вторичные эритемы, которые гораздо чаще бывают при «классической» американской болезни Лайма, чем при других ИКБ в Евразии.

В результате отмирания и распада поверхностной оболочки размножившихся боррелий, в организме пациента в большом количестве появляются бактериальные липополисахариды (ЛПС), продукты взаимодействия которых с цитокинами в конечном счете приводят к разнообразным патологическим процессам. (Одно из частных проявлений этого феномена, которое выражается в заметном повышении температуры тела после начала лечения больного, получило название реакции Яриша-Герксгеймера). Таким образом, токсические продукты распада, а также метаболизма спирохет — это очень важные факторы их патогенности. Живые бактериальные клетки, связываясь через гликозаминогликаны, могут присоединяться к клеткам хозяина. Сцепление спирохет с тромбоцитами происходит через их интегрины, что, впрочем, в большей степени характеризует иммунную систему хозяина (Коренберг, Нефедова, 2010).

Помимо трех патогенетических стадий заболевания, описанных выше, в его динамике выделяют ранний или острый (до нескольких месяцев), подострый (может наступить через 1,5–2 месяца после начала заболевания или позднее), резидуальный (остаточные явления перенесенного боррелиоза) и хронический периоды (Воробьева, 1998; Brade, Kraiczy, 1999; Лобзин, 2000а; Коренберг и др., 2007). По основному характеру клинического течения ИКБ различают латентную (субклиническую), манифестную (эритемную или безэритемную формы) и рецидивную форму, а по поражаемым системам и органам — лихорадочную, нервную, кардиальную, суставную (ревматическую), кожную (и другие, вплоть до смешанной) клиническую форму. Такие формы могут быть выделены для разных периодов заболевания, например для острого (Воробьева, Сумливая, 2003). Каждая из этих классификаций имеет право на существование, поскольку, как и принято в любой классификации, построена по определенному руководящему признаку. Но они имеют несколько абстрактный учебно-схематический характер, поскольку при большой сложности патогенеза и многовариантности течения инфекции реальные заболевания часто демонстрируют перекрывание ее разных стадий и форм, а также отсутствие четкой временной периодизации патологического процесса. Кроме того, очень важно, что начальный этап заболевания нередко проходит в латентной форме, и в этом случае оно может манифестироваться по прошествии длительного времени после заражения, уже

на разных стадиях поражения тех или иных внутренних органов. Поэтому, как уже было отмечено (Лесняк, Беликов, 1995), клинические классификации ИКБ, в которых сделаны попытки без какого-либо руководящего признака схематически представить всеобъемлющую обобщенную схему визуализации конкретного заболевания (Steere, 1983; Steere et al., 1983; Åsbrink and Hovmark, 1988; Martens et al., 1988; Воробьева, 1998; Brade, Kraiczy, 1999; Лобзин и др., 2000а), представляют лишь чисто академический смысл. Даже стремление авторитетного сообщества специалистов создать почитаемую западными клиницистами так называемую «case definition» (стандартное определение случая) Лайм боррелиоза в итоге закончилось описанием «case definition» ряда наиболее распространенных клинических форм заболевания в соответствии с преобладающими поражениями систем и органов (Stanek et al., 1996).

Для ИКБ характерен выраженный полиморфизм поражения органов и систем в различные периоды инфекционного процесса, что значительно затрудняет клиническую диагностику. Некоторые исследователи называют данное заболевание «великим клиническим имитатором». Примерно 20 лет назад у некоторых западных исследователей возникли представления, согласно которым ревматические поражения связаны с *B. burgdorferi* s.s., кожные — вызывает *B. afzelii*, а нарушения нервной системы — *B. garinii*. Хотя они уже давно об этом не вспоминают, этот необоснованный постулат «прижился» в отечественной литературе и продолжает воспроизводиться (Алексеев и др., 2009; Андропова, Миноранская, 2009). В действительности все этиологически различные заболевания группы ИКБ имеют сходный список (набор) клинических проявлений, однако каждой нозологической форме свойственна определенная частота их встречаемости. В этом смысле особенно существенные отличия наблюдаются даже в остром периоде заболевания между болезнью Лайма в США и ИКБ, распространенными в России, где чаще наблюдаются поражения со стороны нервной и сердечно-сосудистой систем, а также печени, но значительно реже вторичные эритемы (табл. 3.7).

Таблица 3.7. Частота клинических проявлений (%) иксодовых клещевых боррелиозов (в России) и болезни Лайма (в Северной Америке) в раннем периоде заболевания с мигрирующей эритемой (по Н.Н. Воробьевой, 1996)

Клинические проявления	Иксодовые клещевые боррелиозы (Россия)	Болезнь Лайма (Северная Америка)
Вторичные элементы мигрирующей эритемы	4,6	50
Поражения нервной системы (энцефалит, менингоэнцефалит, энцефаломиелит, мононевропатия)	3,0	не характерно
Поражение сердечно-сосудистой системы (миокардит с легким и латентным течением)	65,1	не характерно
Поражение печени (острый легкий гепатит)	16,3	10

Обобщенное по опубликованным данным (Ананьева, Скрипникова, 1990; Коренберг и др., 1990а; Коренберг, Насонова, 1991; Деконенко и др., 1995; Apanjeva et al., 1995; Воробьева, 1998; Лесняк, 1999; Лобзин и др. 2000а; Ананьева и др., 2003; Коренберг и др., 2007; и др.) для учебных целей описание клинической картины ИКБ в России может быть представлено следующим образом: продолжительность инкубационного периода варьирует от 2 до 35 дней, в среднем в разных регионах — от 11 до 14 дней. В северо-западном регионе по точно установленным датам укуса клеща и начала заболевания инкубационный период у 23,3 % пациентов составлял не более 5 дней, у 30,3 % — 6–10 дней, у 25,8 % — 11–15 дней, у 12,1 % — 16–20 дней, 8,5 % — 21–25 дней и более (Мебель и др., 1988; Коренберг и др., 1991). Первый или общеинфекционный, как его называют некоторые клиницисты, этап болезни может продолжаться в течение 4–5 недель. Обычно заболевание начинается «вяло». У большинства больных на месте укуса клеща (входные ворота возбудителя) развивается мигрирующая эритема. В значительной части случаев такая эритема не возникает, и развиваются безэритемные формы ИКБ, которые некоторые авторы без должного обоснования объясняют «преимущественным распространением в очаге *B. garinii*» (Андропова и др., 2009. С. 62).

Мигрирующая эритема — это единственный патогномичный признак ИКБ. Эритема развивается от места присасывания клеща. Она начинается с небольшого участка гиперемии и быстро распространяется от центра к периферии, зачастую оконтуренная более темноокрашенным валиком, слегка выступающим над поверхностью кожи. Эритема постепенно увеличивается (мигрирует) вследствие размножения возбудителя в ее периферической части (отсюда названия: при первоописании *erythema chronicum migrans*; современное — мигрирующая эритема). С течением времени центральная часть эритемы бледнеет или приобретает цианотичный оттенок, а периферия остается более яркой; зона эритемы может быть равномерно гиперемированной. Ее форма, размеры и характер весьма разнообразны, а очертания обычно имеют неправильную форму. Эритема обычно сопровождается зудом, болезненностью, чувством жжения. У одной трети больных наблюдается регионарный лимфаденит. Обычно это безболезненное увеличение лимфоузлов, расположенных ближе к месту присасывания клеща. Без лечения поражение кожи сохраняется 4–10 недель. После антибиотикотерапии эритема бледнеет и угасает в течение 3–4 дней; лишь иногда имеет место шелушение или слабая остаточная пигментация. Изредка наблюдаются атипичные поражения кожи с развитием везикул, пустул, геморрагий в центре эритемы непосредственно в месте укуса клеща. При отсутствии или позднем начале лечения максимальный размер поперечника эритемы у больных Лайм боррелиозом в США может достигать до 50–60 см и более. В Евразии большие эритемы бывают значительно реже; здесь их средний размер — около 15 см.

Минимальный размер эритемы имеет важное диагностическое значение, поскольку ее не следует путать с местной реакцией на укус клеща. Дело в том, что на месте присасывания переносчика нередко появляется сходно окрашенное «пят-

но», которое в публикациях по КЭ часто называют первичным аффектом на укус клеща. Величина пятна не связана с наличием боррелий в слюне членистоногого; она зависит от количества инокулируемой слюны и чувствительности человека к ней. У основного переносчика боррелий в США — клеща *I. scapularis* — на человека нападают в подавляющем большинстве случаев нимфы, местная реакция на укус которых бывает значительно слабее, чем на укус взрослого клеща (Коренберг, 2002). Там официальными документами CDC принят небольшой нижний порог размера эритемы (5 см). Эта рекомендация, некритично воспринятая некоторыми российскими клиницистами и эпидемиологами, не подходит для нашей страны, поскольку большая часть заболеваний ИКБ у нас связана с укусами взрослых *I. persulcatus* (раздел 3.4.1). О. М. Лесняк (1999, С. 62) ошибочно полагает, что местная реакция на их укус «...не превышает 2–3 см в диаметре и продолжается не дольше одного–трех дней». У людей, чувствительных к воздействию слюны клеща, а также его ротового аппарата, и склонных к аллергии, особенно при нахождении паразита на их теле сутки и более, первичный аффект может достигать до 5–6 см и держаться заметно дольше. Не принимая это во внимание и зная, что появляющаяся эритема может быть признаком начинающегося ИКБ, недостаточно опытные врачи ставят этот диагноз, уже когда обнаруживают «пятно» такого размера. Поэтому довольно четким признаком ИКБ в России можно считать только мигрирующую эритему размером не менее 10 см, тем более, что ее нужно дифференцировать от возможных эритем совершенно другого генеза (Лесняк, 1999; Оберт и др., 2000).

Одновременно с появлением эритемы появляются признаки общинфекционного синдрома. У 80% больных начинается лихорадочная реакция. Температура может быть субфебрильной, реже повышается до 39 °С и держится короткое время (3–7 дней). Наряду с температурной реакцией, нередко сопровождающейся ознобом, может появиться недомогание, утомляемость, слабость, головная боль, кратковременные мышечные и суставные боли, тошнота, рвота. При адекватном лечении (раздел 3.8) симптомы интоксикации довольно быстро регрессируют, однако у части больных (16–19%) лихорадка возникает или усиливается в ответ на введение первых доз антибиотиков как проявление реакции Яриша-Герксгеймера.

Быстро распознать безэритемную форму ИКБ удастся редко. Значительная часть таких заболеваний, скорее всего, остается не выявленной, поскольку многие люди в подобной ситуации вообще не обращаются к врачу или обращаются за медицинской помощью спустя большой промежуток времени после заражения, когда инфекционный процесс уже успел получить развитие. Во многих таких случаях лечение начинается позднее, и заболевание протекает тяжелее, чем при эритемной форме. Клинические симптомы полиморфны и чаще включают проявления диссеминации возбудителя: поражения нервной системы, опорно-двигательного аппарата, сердца, печени (рис 3.10). Возможны головные боли, слабость, недомогание, боли в мышцах шеи, лабильность пульса и артериального давления, анорексия, тошнота, трахеобронхит, конъюнктивит. По данным Н. Н. Воробьевой

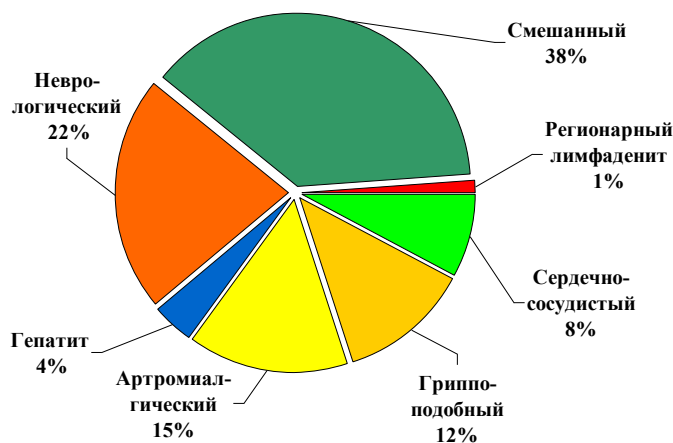


Рис. 3.10. Клинические варианты течения раннего периода безэритемной формы ИКБ (по Н.Н. Воробьевой, 1998).

(1998) в Пермском крае переход острой безэритемной формы в хроническую при отсутствии своевременного адекватного лечения происходит в 78,8% случаев.

Довольно часто наблюдается бессимптомное течение начальной фазы инфекционного процесса, сопровождающееся появлением активного специфического гуморального иммунитета (Ананьева и др., 1990; Коренберг и др., 1990; Huegli et al., 2011). Эта группа пациентов зачастую своевременно не получает этиотропного лечения, что способствует риску формирования у них хронического течения заболевания.

Вторая стадия заболевания возникает чаще на 3–5 неделе болезни вследствие диссеминации возбудителя. Ее развитие как при эритемной, так и при безэритемной формах ИКБ приводит к возможным поражениям ряда органов и систем: селезенки и печени, но чаще — нарушениям нервной и сердечно-сосудистой систем. Неврологические расстройства, как наиболее характерные проявления этой стадии болезни, наблюдаются у 10–15% больных. Они протекают в виде невритов черепных нервов (преимущественно лицевого нерва), которые могут приводить к парезу лицевых мышц, полинейропатии, серозного менингита, радикулоневрита, менингордикулоневрита (или синдром Банварта). У 83,0% больных доминируют поражения периферической нервной системы (полинейропатии). Довольно редко (у 2,6% пациентов) развивается менингит. Нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы проявляются в основном расстройствами предсердно-желудочковой проводимости вплоть до полной сердечной блокады и развитием миокардита. Чаще всего возникают транзиторные синоатриальные и атриовентрикулярные блокады, блокады пучка Гиса и его ветвей, нарушения ритма. Патологический процесс обычно нормализуется самопроизвольно, но в ряде случаев при глубоких нарушениях, сопровождающихся развитием блокады 2–3 степени, временно требуется имплантация искусственных водителей ритма. Реже диагно-

стируются миокардиты, которые имеют преимущественно доброкачественный характер. Поражение печени в ранний период болезни характеризуется развитием безжелтушного гепатита у трети больных. Гепатит отличается доброкачественным течением и быстрым регрессом всех симптомов. На коже могут появляться вторичные, обычно небольшие, эритемы, не связанные с местом присасывания клеща (от единичных до нескольких десятков). К более редким проявлениям ИКБ относится доброкачественная лимфоцитома кожи; ее локализация — мочка уха, сосок молочной железы, а пораженные участки кожи отечные, ярко малиновые, болезненные при пальпации. Появление артралгий и миалгий в острый период указывает на раннее поражение костно-суставной системы. Диссеминация боррелий и их проникновение в различные органы и ткани может также сопровождаться развитием генерализованной лимфаденопатии, хориоретинитом, пан-офтальмитом, гепатитом, бронхитом, микрогематурией, орхитом. Большинство названных нарушений имеют преходящий характер и под влиянием адекватного лечения быстро регрессируют.

Дальнейшее развитие инфекционного процесса (третья стадия) связана с персистенцией возбудителя в организме. В России она наступает через 6 месяцев–2 года после острого периода приблизительно у 10% больных и приводит к появлению трудно пролечиваемых и даже неизлечимых патологических изменений. Хронический процесс, как уже отмечено, чаще формируется у больных с безэритемной формой, не получавших в ранней фазе инфекционного процесса специфической терапии. В клинической картине хронического ИКБ доминируют (у 85% таких пациентов) поражения центральной и периферической нервной системы с разнообразными синдромами (Алыпova и др., 2002a). Наиболее частым вариантом следует считать энцефалит. Реже наблюдается энцефаломиелит, энцефалополиневрит, энцефалополирадикулопатия, невропатия черепных нервов, полиневропатия. В отличие от американской болезни Лайма в России не происходит значительного поражения опорно-двигательного аппарата, вследствие чего артриты развиваются редко (у 9,8% хроников). Они проявляются как острый артрит (зачастую крупных суставов), хронический артрит. Может развиваться акродерматит (вплоть до атрофического). Структура органопатологии при хроническом ИКБ обычно имеет смешанный характер.

Следует принять во внимание, что изложенная последовательность клинико-патологических событий — это лишь обобщенная схема, которая реализуется далеко не в каждом конкретном случае. Более того, даже у нелеченных больных часто «выпадают» определенные стадии инфекционного процесса: например, при бессимптомном развитии инфекционного процесса в его дебюте он может клинически манифестироваться через продолжительный период после заражения уже в хронической стадии заболевания; после завершения выраженного острого периода могут отсутствовать клинические проявления второй стадии инфекционного процесса, и заболевание вновь манифестируется только на его третьей стадии, которой во многих других случаях может не быть вообще, а заболевание, особенно

после его адекватного и своевременного лечения, проявится только поражениями, характерными для первой и второй стадий. Перечень таких вариантов, свидетельствующих о «многоликости» клиники ИКБ, можно было бы продолжить.

К этому нужно добавить, что иммуно-физиологические особенности детей, возрастные черты развития и функционирования их внутренних органов оказывают заметное влияние на течение инфекционного процесса и клинические проявления ИКБ. Для детей характерны острое течение преимущественно безэритемных форм, а также частые поражения нервной системы при отсутствии выраженной стадийности заболеваний. Лихорадка может сопровождаться общемозговыми симптомами и менингизмом, которые регрессируют по мере нормализации общего состояния (Субботин, Попонникова, 2001; Мерзлова, Самаров, 2012).

Желательно, чтобы все перенесшие боррелиоз, независимо от тяжести заболевания, находились под диспансерным наблюдением не менее 1 года. Особое внимание обращают на возможность хронизации инфекционного процесса. Поэтому важным элементом диспансерных наблюдений должен быть серологический контроль, поскольку его результаты могут свидетельствовать об эффективности лечения больного в остром периоде и о вероятности дальнейшей персистенции возбудителя в его организме. Первое обследование может быть осуществлено через 1,5–2 месяца после окончания специфического лечения. Периодичность дальнейших наблюдений, лечебные и реабилитационные мероприятия назначаются согласно клиническим показаниям и на основании сравнения результатов последнего серологического тестирования с предыдущим. Если больной впервые обратился за медицинской помощью на позднем этапе заболевания, после проведения курса специфической терапии он также должен находиться под диспансерным наблюдением. При тех или иных необратимых поражениях, повлекших утрату трудоспособности, пациента направляют на ВТЭК.

3.7. Иммуитет, боррелиемия и антигенемия

Боррелии впервые встречаются с проявлением иммунной системы макроорганизма, как только соприкасаются с ним в месте укуса клеща: происходит лизис части из них, обусловленный действием комплемента. Бактериальные липопротеины активируют макрофаги к выработке противовоспалительных цитокинов. Кроме того, функционируя как элемент врожденного иммунного ответа, макрофаги поглощают и убивают спирохеты. Гуморальный иммунный ответ на нелипидные поверхностные, жгутиковые и цитоплазматические антигены (протеины) спирохет замедлен и, очевидно, зависит от Т-клеток. Главные иммунодоминантные протеины — DbpA, VlsE, OspC, OspA, VmpA, P66, P58, P83/100 и флагеллин. Специфичные к *B. burgdorferi* CD4+Th1 клетки, которые представляют собой начальную стадию ответа Т-зависимых В-лимфоцитов, и антигенспецифичные CD8+ Т-клетки продуцируют интерферон- γ . Таким образом, и врожденные,

и адаптивные формы иммунитета мобилизуются на борьбу с инфекцией. Многие другие мембранные липопротеины боррелий иммуногенны и вызывают гуморальный иммунный ответ хозяина. На разных стадиях развития инфекционного процесса он имеет свои особенности (табл. 3.8). На I стадии заболевания антитела обычно обнаруживают в крови 20–50% пациентов, на II — у 70–90% и почти в 100% случаев на III стадии болезни (Wilske, 2003).

Таблица 3.8. Особенности гуморального иммунного ответа на разных стадиях инфекционного процесса при ИКБ (Коренберг, Нефедова, 2010).

Стадия	Проявления гуморального иммунитета
Локализованная	Вначале (в первые дни после начала заболевания) появляются IgM, несколько позднее – IgG. Инфекция часто серонегативна, особенно при непродолжительной болезни.
Диссеминированная	Преимущественно вырабатываются IgG. Продукция антител в спинномозговой жидкости при нейроборрелиозе.
Персистирующая	IgM, как правило, не бывает. Высокий уровень IgG, особенно при артритах и акродерматитах. Продукция антител в спинномозговой жидкости при хроническом нейроборрелиозе.

В небольшом количестве М-иммуноглобулины к флагеллину (41-kD) и мембранному протеину OspC боррелий начинают появляться в первые дни заболева-

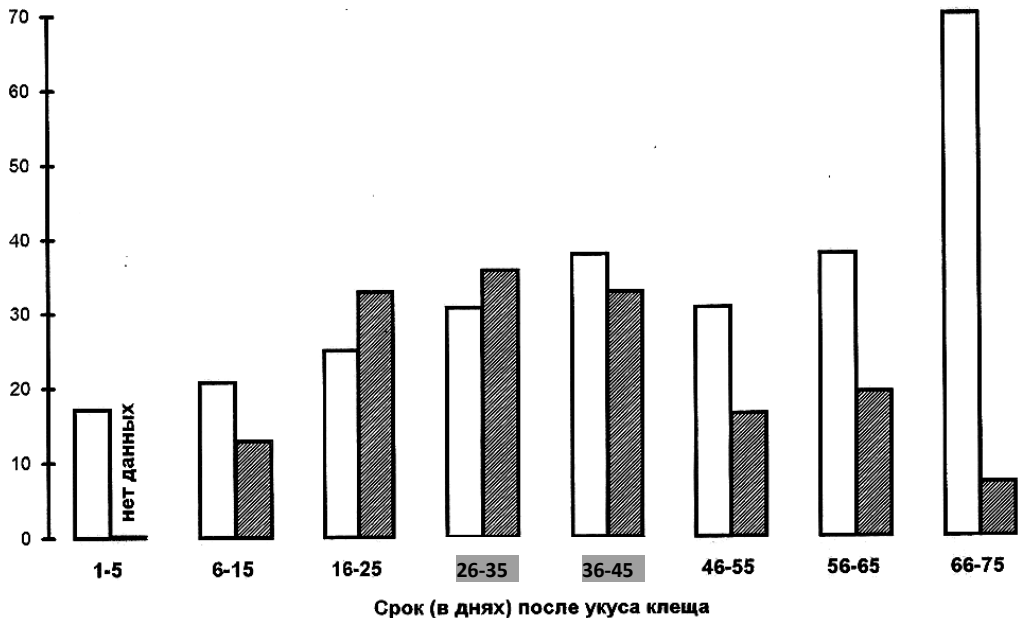


Рис. 3.11. Изменение титров антител у больных ИКБ по результатам нРИФ (Коренберг и др., 2000).

ния. Их титры нарастают в течение 4–6 недель даже при специфическом лечении, а у нелеченных больных — несколько дольше; затем к 8–10-й неделе заболевания они постепенно снижаются (рис. 3.11). Через 2–3 недели от начала болезни начинают нарастать титры иммуноглобулинов G против ряда белков, например, P39 и P58. На поздней стадии заболевания возникает широкий спектр антител к протеинам боррелий P83/100, P58, P43, P39, P30, P21 Osp17 и P14. Иммунитет при ИКБ нестерилен. Поскольку возбудитель способен длительно персистировать в организме человека, наличие антител при отсутствии выраженных клинических признаков с большой вероятностью свидетельствует о хронизации инфекционного процесса. По данным скрининговых исследований в разных областях России до 10% и более жителей имеют антитела к боррелиям в достоверно высоких титрах (разделы 3.5.2 и 3.6). После элиминации возбудителя титры антител довольно быстро снижаются и исчезают через несколько месяцев или даже раньше. Это делает вероятной возможность повторного заболевания при реинфицировании (Коренберг, 2002; Nadelman and Wormser, 2007; Коренберг, Нефедова, 2010).

На протяжении инфекционного процесса боррелии продуцируют генетически детерминированные антигенные варианты OspE протеинов, что способствует их уклонению от иммунитета хозяина. Вместе с тем замечено, что при Лайм-артрите, даже без специфической терапии, изначальное число пациентов, подверженных атакам, ежегодно уменьшается на 10–20%, и дольше пяти лет атаки артрита испытывают немногие. Поэтому полагают, что в конечном счете иммунные механизмы элиминируют *B. burgdorferi* s.s. из сустава. Однако в кожном покрове *B. afzelii*, например, может персистировать в течение десятилетий, и при этом развивается хронический атрофический акродерматит, что свидетельствует о неэффективности локального внутрикожного иммунного ответа. При ИКБ выявлена зависимость между характером поражения нервной системы, а также вероятностью развития трудно пролечиваемого антибиотиками артрита и HLA-статусом человека. Так, для развития разных форм нейроборрелиоза существенное значение имеет генетическая предрасположенность, определяющаяся специфическими аллелями локуса DRB1 системы главного комплекса гистосовместимости, а длительное воспаление суставов нередко ассоциировано с аллелем HLA-DRB1*0401.

Для ИКБ, как и для других спирохетозов, характерна значительная доля серонегативных случаев, которые могут быть как в остром, так и в хроническом периоде, что существенно затрудняет их диагностику, особенно при безэритемных заболеваниях (Скрипникова и др., 1995; Коренберг, 1993; Воробьева, 1998; Wilske, 2003). Так, даже у пациентов с выраженной мигрирующей эритемой серонегативными при локализованной стадии заболевания могут быть более 65% пациентов, причем клиническая картина как у серопозитивных, так и у серонегативных больных практически сходна (Тетерин и др., 2011). Серонегативные варианты заболеваний в том или ином количестве наблюдаются и при более поздних стадиях инфекционного процесса. Показатели их доли, естественно, существенно зависят от чувствительности тестсистем, применяемых для выявления специфических

антител. Однако любые, даже наиболее чувствительные тестсистемы, не позволяют выявить антитела у части пациентов (Крючечников, 1998; Коренберг и др., 2000; Фризен и др., 2004, 2005; Помелова и др., 2009 и др.).

Показатели частоты изоляции возбудителя из крови больных ИКБ (примерно 8–12%) в целом свидетельствуют о непродолжительности и слабости боррелиемии (Wallach et al., 1993; Maraspin et al., 2001; Ružić-Sablji et al., 2002; Нефедова и др., 2009). Культуры, как правило, вырастают при посеве проб, взятых на вторую (реже — третью) неделю от начала заболевания (табл. 3.9). При серонегативном боррелиозе получить изоляты боррелий из крови пациентов удастся значительно чаще. Этому способствует посев материала, полученного в первые две недели заболевания (т.е. в период незначительного действия на боррелий специфических антител, появляющихся в крови пациента), а также до начала антибиотикотерапии (Wilske, 2003).

Таблица 3.9. Результаты изоляции боррелий из крови больных эритемной формой ИКБ (Нефедова и др., 2009)

Характеристика пациентов (проб крови)	Количество и процент ($P \pm 2mp$) проб от общего числа исследованных	Количество и процент ($P \pm 2mp$) положительных проб от числа исследованных в данной группе
Продолжительность инкубационного периода:		
до 7 дней	34 (43,0 \pm 11,1)	2 (5,9 \pm 8,1)
до 14 дней	26 (32,9 \pm 10,6)	5 (19,2 \pm 15,5)
до 21 дня	16 (20,2 \pm 9,0)	3 (18,7 \pm 19,5)
до 28 дней	3 (3,8 \pm 4,3)	0
Срок госпитализации от начала заболевания (в днях)		
7–13	63 (79,7 \pm 9,1)	9 (14,3 \pm 8,8)
14–20	11 (13,9 \pm 7,8)	1 (9,1 \pm 17,3)
21–27	3 (3,8 \pm 4,3)	0
28 и больше	2 (2,5 \pm 3,5)	0
Срок посева плазмы от начала заболевания (в днях)		
7–13	61 (77,2 \pm 9,4)	8 (13,1 \pm 8,6)
14–20	12 (15,2 \pm 8,1)	2 (16,7 \pm 21,5)
21–27	3 (3,8 \pm 4,3)	0
28 и больше	3 (3,8 \pm 4,3)	0
Всего исследовано:	79 (100%)	10 (12,7%)

В первую неделю от начала заболевания, т.е. в его локализованной стадии, ДНК боррелий обнаруживается лишь в небольшом числе проб крови вне зависимости от формы заболевания, что, вероятно, связано со слабой спирохетемией в этот период. Наиболее часто ее удается обнаружить в крови пациентов на 8–14 день от начала заболевания, что совпадает с оптимальными сроками изоляции боррелий из крови пациентов культуральным методом, т.е. со сроками наиболее выраженной боррелиемии. При этом положительными могут быть не только пробы крови, взятые у больных в начале специфического лечения, но и пробы, взятые на 10–14 день с момента назначения антибиотикотерапии. На третьей неделе от начала болезни процент ПЦР-положительных проб по сравнению с предыдущим сроком снижается практически в два раза, что, возможно связано с начинающейся в это время элиминацией возбудителя из крови больных людей. Позднее 34-го дня от начала заболевания не удается определить геномный материал боррелий в крови пациентов даже методом «nested» ПЦР (табл. 3.10). С некоторым приближением эти данные позволяют судить о динамике антигенемии в остром периоде ИКБ.

Таблица 3.10. Результаты исследования в ПЦР проб крови 127 пациентов с диагнозом ИКБ (Тетерин и др., 2010)

Сроки от начала заболевания (в днях)	Исследовано проб и процент (P±2mp) от их общего числа	Из них число и процент (P±2mp) проб с ДНК боррелий
1–7	92 (26,6±4,7)	6 (6,5±5,1)
8–14	81 (23,4±4,5)	53 (65,4±10,5)
15–21	55 (15,9±3,9)	15 (27,3±12,0)
22 и больше	118 (34,1±5,1)	4 (3,4±3,3)
Всего проб:	346 (100 %)	78 (22,5 %)

3.8. Лечение

Этот раздел содержит рекомендации инфекционистов: Н.Н. Воробьевой, О.Н. Сумливой, В.И. Фризена, М.В. Афанасьевой (см. Коренберг и др., 2007). Поскольку возбудители боррелиозов чувствительны к антибиотикам, антибактериальная терапия показана на всех стадиях заболевания, причем чем раньше начинается лечение, тем оно эффективнее. Этиотропная терапия в начале инфекционного процесса способствует более быстрому его завершению и предупреждает развитие поздних проявлений. Большое значение для элиминации боррелий из организма и предупреждения хронического течения инфекции имеет продолжительность лечения. Для лечения боррелиозов используют препараты тетраци-

клинового ряда, пенициллины, цефалоспорины, макролиды. На ранней стадии ИКБ наиболее эффективно пероральное применение доксициклина (вибрамицин), тетрациклина, цефураксима (зиннат, зинацеф), сумамеда (азитромицин). Курс лечения обычно составляет 10–14 дней. В более позднем периоде болезни оптимально парентеральное введение цефалоспоринов третьего поколения, курсом от 2 до 4 недель: цефтриаксона (лонгацеф, офрамикс) или цефотаксима (клафоран). Дозировку и длительность курса лечения подбирают в зависимости от текущего состояния пациента и динамики его клинического статуса. Этиотропную терапию сочетают с коррекцией функциональных нарушений организма патогенетическими средствами. Госпитализацию больных проводят по клиническим показаниям. Комплекс лечебных мероприятий включает в себя этиотропную, патогенетическую и симптоматическую терапию с учетом локализации и степени выраженности патологических проявлений.

3.9. Литература

- Алексеев А. Н. // Система клещ — возбудитель и ее эмерджентные свойства. С.-Петербург, 1993. 202 с.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Мовилэ А. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 55.
- Алытова И. И., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. // Мед. паразитол. 2002. № 1. С. 37.
- Алытова И. И., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Щипицина Н. Н. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002а. № 3. С. 25.
- Амосов Л. И. // Паразитология. 2000. Т. 34, № 4. С. 234.
- Ананьева Л. П., Барскова В. Г., Конева О. А. и др. // Вестник РАМН. 2003. № 7. С. 42.
- Ананьева Л. П., Барскова В. Г., Скрипникова И. А., Смир А. С. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 66.
- Ананьева Л. П., Коренберг Э. И., Скрипникова И. А. и др. // Мед. паразитол. 1990. № 6. С. 28.
- Ананьева Л. П., Скрипникова И. А. // Тер. архив. 1990. Т. 62, № 5. С. 135.
- Ангелов Л., Азилиман А., Коренберг Э. И. и др. // Мед. паразитол. 1990. № 4. С. 13.
- Андропова Н. В., Миноранская Н. С. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 63.
- Андропова Н. В., Миноранская Н. С., Миноранская Е. И. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С.
- Антыкова Л. П., Коренберг Э. И., Сергеева М. Я. и др. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 112.
- Балашов Ю. С. Кровососущие клещи (*Ixodoidea*) — переносчики болезней человека и животных. Наука. Л., 1967. 319 с.
- Балашов Ю. С. // Паразитология. 1968. Т. 2. С. 198.
- Балашов Ю. С. // Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. Наука. СПб., 2009. 357 с.
- Балашов Ю. С., Амосова Л. И., Григорьева Л. А. // Паразитология. 1998. Т. 32, № 6. С. 489.
- Балашов Ю. С., Амосова Л. И., Григорьева Л. А. // ДАН. 1998а. Т. 363, № 3. С. 422.
- Балашов Ю. С., Григорьева Л. А. // ДАН. 1997. № 1. С. 130.
- Балашов Ю. С., Григорьева Л. А., Оливер Дж. Х. // Паразитология. 1997. Т. 31, № 2. С. 97.
- Барбур А. Г., Коренберг Э. И. // Проблемы инфектологии. Медицина. М., 1991. С. 181.
- Беляков В. Д., Яфаев Р. Х. // Эпидемиология. Медицина. М., 1989. 416 с.
- Волегова Г. М., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. и др. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 122.
- Воробьева Н. Н. // Клиника, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов. «Звезда». Пермь, 1998. 132 с.
- Воробьева Н. Н., Волегова Г. М., Ларионова Г. Г. и др. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 81.
- Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. и др. // Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 77.
- Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. // Мед. паразитол. 2003. № 4. С. 3.
- Горелова Н. Б. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 31.
- Горелова Н. Б., Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И. и др. // Сибирская зоологическая конференция. Новосибирск, 2004а. С. 367.
- Горелова Н. Б., Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Паразитология. 1996. Т. 30, № 1. С. 13.
- Горелова Н. Б., Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Материалы VIII Всерос. акарол. совещания. СПб., 2004. С. 27.
- Горелова Н. Б., Коренберг Э. И., Postic D. др. // ЖМЭИ. 2001. № 4. С. 10.
- Горелова Н. Б., Коренберг Э. И., Филиппова Н. А., Постик Д. // Доклады АН. 2001а. № 378 (4). С. 558.

- Григорьева Л. А., Третьяков К. А. // Паразитология. 1998. № 5. С. 422.
- Деконенко Е. П., Смирнов Ю. К., Уманский К. Г. // Ж. невропатол. и психиатр. 1985. В. 4. С.539.
- Деконенко Е. П., Смирнов Ю. К., Уманский К. Г. // Мед. паразитол. 1986. № 3. С.75.
- Деконенко Е. П., Стир А. С., Кравчук Л. Н. // Мед. паразитол. 1988. 34. С. 55.
- Деконенко Е. П., Стир А. С., Уманский К. Г. // Тер. Архив. 1989. Т. 61, № 10. С.116.
- Деконенко Е. П., Уманский К. Г. // Журн. невро. и психиатр. 1989. Т. 89. Вып. 2. С. 15.
- Деконенко Е. П., Уманский К. Г., Вирич И. Е. и др. // Тер. Архив. 1995. Т. 67, № 11. С. 52.
- Деконенко Е. П., Уманский К. Г., Курпирянова Л. В. // Клин. мед. 1991. Т. 69, № 4. С.68.
- Дубинина Е. В. // Acarina. 2000. № 2. С. 125.
- Дубов А. В. // Тр. Научн. конф. Хабаровск. НИИЭМГ. 1959. Вып. 5. С. 32.
- Елсукова Л. В., Коренберг Э. И., Козин Г. А. // Мед. паразитол. 1994. № 3. С. 59.
- Киселева Т. С. // Тез. докл. обл. научно-практич. конф. по клещевому энцефалиту. Пермь, 1967. С.42.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Нефедова В. В. // Зоол. журн. 2013. Т. 92, № 4. С.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Дауйотас С. В. // Мед. паразитол. 1990. № 1. С. 33.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Никиточкин И. Г. // Мед. паразитол. 1991. № 3. С. 18.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Левин М. Л. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 137.
- Ковалевский Ю. В., Крючечников В. Н., Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1988. № 5. С. 75.
- Ковалевский Ю. В., Куксгаузен Н. А., Жмаева З. М. // Паразитология. 1975. Т. 9. С. 518.
- Коваленко В. Н. // Журн. невро. и психиатр. 1969. Т. 69, вып. 5. С. 659.
- Колчанова Л. П. // Мед. паразитол. 1997. № 1. С. 49.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. Т. 2. «Ингерсен». М., 2002. С. 20.
- Коренберг Э. И. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002а. С.167.
- Коренберг Э. И. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 13.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1993а. № 1. С. 48.
- Коренберг Э. И. // Здоровье населения и среда обитания. 1993б. № 5. С.6.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 1996. Т. 116, вып. 4. С. 389.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1996а. № 3. С. 14.
- Коренберг Э. И. // Журн. Инфекц. патол. 1996б Т. 3. № 4. С. 22.
- Коренберг Э. И. // РЭТ-инфо. 1999. № 1. С. 12.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. М., 2002. Т. 2. С. 20.
- Коренберг Э. И. // Природная очаговость болезней: исследования Института им. Гамалеи РАМН. М., 2003. С. 99.
- Коренберг Э. И. // Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина. М., 2003а. С. 376.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 2010. Т. 89, № 1. С. 5.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2012. Т. 132, № 5. С. 448.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. и др. // Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Методические рекомендации для врачей. Пермь, 2007, 67 с.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Ковалевский Ю. В. // Паразитология. 2002. Т. 36, № 3. С. 177.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Постик Д. и др. // ЖМЭИ. 1997. № 6. С. 36.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Postic D., Котти Б. К. // ЖМЭИ. 1999. № 2. С. 3.
- Коренберг Э. И., Забродин Н. А. (ред.) // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. 324 с.
- Коренберг Э. И., Калинин М. И., Скрипникова И. А., Солдаткина Л. М. // Мед. паразитол. 1990. № 3. С. 15.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Районирование ареала клещевого энцефалита. Итоги науки и техники: Медицинская география. ВИНТИ. М., 1981. Т. 11. 148 с.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 193.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузнецова Р. И. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 1. С. 45.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н. // ЖМЭИ. 1996. № 4. С. 104.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Деконенко Е. П. и др. // ЖМЭИ. 1996. № 6. С. 111.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Ковалевский Ю. В. и др. // ДАН СССР. 1987. Т. 297, № 5. С. 1268.

- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Ковалевский Ю. В. // Вестник АМН СССР. 1990а. № 6. С. 52.
- Коренберг Э. И., Кузнецова Р. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Мед. паразитол. 1991. № 3. С. 14.
- Коренберг Э. И., Лихачева Т. В. // Биопрепараты. 2004. № 2 (14). С.13.
- Коренберг Э. И., Насонова В. А. // Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма. М., 1991. 61 с.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В. // Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Бином. М., 2010. С. 844.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Горелова Н. Б. и др. // Вестник РАМН. 2011. № 10. С.10.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Фадеева И. А., Горелова Н. Б. // Бюлл. Сиб. Мед. 2006. Т. 5, приложение 1. С. 87.
- Коренберг Э. И., Николенко В. В., Воробьева Н. Н. и др. // Мед. паразитол. 2000. № 3. С. 9.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Захарычева Т. А. и др. // Мед. паразитол. 1989. № 5. С. 74.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Ковалевский Ю. В. и др. // ДАН СССР. 1988а. Т. 302, № 3. С. 759.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Крючечников В. Н. // Мед. паразитол. 1987а. № 2. С.71.
- Коренберг Э. И., Яфаев Р. Х. // Эпидемиология. Медицина. М., 1989. С. 359.
- Кравчук Л. Н., Коренберг Э. И., Калинин М. И. и др. // Мед. паразитол. 1993. № 1. С. 29.
- Крючечников В. Н. // ЖМЭИ. 1985. № 9. С. 101.
- Крючечников В. Н., Горелова Н. Б., Щербаков С. В. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 45.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Деконенко Е. П., Уманский К. Г. // Системный клещевой боррелиоз (болезнь Лайма). Методические рекомендации. М., 1987. 27 с.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Щербаков С. В. и др. // Мед. паразитол. 1985. № 6. С. 39.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Щербаков С. В. и др. // ЖМЭИ. 1988. № 12. С. 41.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Щербаков С. В. и др. // ЖМЭИ. 1990. № 6. С. 10.
- Кузнецова Р. И., Шаповал А. Н., Чурилова А. А. // Авторефераты и краткие сообщения к итоговой конференции Института им. Пастера с участием представителей санитарно-эпидемиологических станций Северо-западных областей. Л., 1967. С. 177.
- Левин М. Л., Ковалевский Ю. В., Пискунова А. Ю., Щеголева Т. В. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 157.
- Левина Г. А., Коренберг Э. И., Kibel J. // Клещевые боррелиозы: материалы научно-практической конференции. Ижевск, 2002. С. 177.
- Лесняк О. М. // Лайм-боррелиоз. «Полиграфист». Екатеринбург. 1999. 225 с.
- Лесняк О. М., Беликов Е. С. // Тер. архив. 1995. Т. 67, № 11. С. 49.
- Лесняк О. М., Лайковская Е. Э., Чарнис М. Я., Котов Н. Б. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 74.
- Ливанова Н. Н., Фоменко Н. В., Ливанов С. Г. // Вестник Урал. гос. мед. акад. 2010. № 21. С. 110.
- Лисовская Н. Д. Материалы к изучению хронического атрофирующего акродерматита. Автореф. дисс. ...канд. мед. наук Гос. Инст. усовершенствования врачей. Л., 1958.
- Лихачева Т. В., Коренберг Э. И. // Актуальные аспекты природноочаговых болезней. Омск, 2001. С. 103.
- Лихачева Т. В., Коренберг Э. И. // ЖМЭИ. 2003. № 2. С. 28.
- Лихачева Т. В., Коренберг Э. И., Синцова В. С. // Мед. паразитол. 2003. № 3. С. 31.
- Лобзин Ю. В., Рахманова А. Г., Антонов В. С. и др. // Эпидемиология, этиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов. «Павел». С-Пб., 2000. 78 с.
- Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Козлов С. С. // Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). «Издательство фолиант». С-Пб., 2000а. 156 с.
- Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Юшук Н. Д. и др. // Иксодовые клещевые боррелиозы (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика). «ВУНМЦ Росздрава». М., 2007. 45 с.
- Магазаник С. С., Погодина В. В. // Клин. мед. 1960. № 9. С. 59.
- Матущенко А. А., Венедиктов В. С., Якименко В. В., Танцев А. К. // Ж. инфекц. патол. 1996.
- Матущенко А. А., Рудакова С. А. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 133.
- Матущенко А. А., Рудакова С. А., Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1993. № 4. С. 27. № 3. С. 37.
- Мебель Б. Д., Бейтришвили Г. А., Живич М. Б. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 3. С. 30.
- Мерзлова Н. Б., Самаров М. Н. // Мед. паразитол. 2012. № 2. С. 23.
- Мещерский Г. И. // Протоколы Московского Венерологического и Дерматологического общества. 1898. № 8. С. 135.

- Москвитина Г. Г., Коренберг Э. И., Горбань Л. Я. // Мед. паразитол. 1995. № 3. С. 16.
- Москвитина Г. Г., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Клещевые боррелиозы: материалы научно-практической конференции. Ижевск, 2002. С. 205.
- Москвитина Г. Г., Коренберг Э. И., Стилман Э. Щеголева Т. В. // Паразитология. 1995а. Т. 29, № 5. С. 353.
- Мотеюнас Л. И., Коренберг Э. И., Дауатас С. В. и др. // XII Всесоюзн. конф. по природной очаговости болезней. М., 1989. С. 108.
- Наумов Р. Л. // Мед. паразитол. 1999. № 2. С. 20.
- Наумов Р. Л., Васильева И. С., Гутова В. П., Еришова А. С. // Паразитология. 1998. Т. 32., № 5. С. 412.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Андрейчук Ю. В. и др. // ЖМЭИ. 2005. № 4. С. 23.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. и др. // ЖМЭИ. 2009. № 1. С. 63.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Мол. ген. микробиол. и вирусол. 2010. № 1. С. 21.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Мол. ген. микробиол. и вирусол. 2010а. № 3. С. 7.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. и др. // Клещевые боррелиозы: материалы научно-практической конференции. Ижевск, 2002. С. 210.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Ковалевский Ю. В. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. 2007. № 3 (55). Приложение. С. 139.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Нестеренко Л. Н. и др. // Паразитология. 2001. Т. 35, № 1. С. 3.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Фадеева И. А., Горелова Н. Б. // Мед. паразитол. 2005. № 2. С. 9.
- Нефедова В. В., Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И. и др. // ЖМЭИ. 2009. № 1. С. 63.
- Нефедова В. В., Фадеева И. А., Коренберг Э. И. и др. // Мат. VIII Всеросс. акарол. совещ. СПб., 2004. С. 80.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Шашина Н. И., Нестеренко Л. Н. // Актуальные аспекты природноочаговых болезней. Омск, 2001а. С. 116.
- Никольский П. В. // Дневник VI Съезда русских врачей в память Н. И. Пирогова. 1896. № 12. С. 89.
- Оберт А. С., Дроздов В. Н., Рудакова С. А. // Иксодовые клещевые боррелиозы. Наука. Новосибирск, 109 с.
- Оберт А. С., Егорова Т. В., Новиков А. И., Дроздов В. Н. // Иксодовый клещевой боррелиоз и схожие с ним эритемы у детей. ОГМА. Барнаул-Омск, 2000. 100 с.
- Панов А. Г. // Клещевой энцефалит. Медгиз. Л., 1956. 283 с.
- Первушин В. П. // Клини. мед. 1943. Т. 21, № 1–2. С. 17.
- Писемский Н. Н. // Медицинское обозрение 1902. № 37. С. 710
- Поспелов А. И. // Руководство по изучению кожных болезней. М., 1905. 650 с.
- Поспелов А. И. // Медицинское обозрение. 1906. № 26. С. 565.
- Пищенко Н. Д., Кветкова Э. А., Коренберг Э. И., Шербаков С. В. и др. // XII Всесоюзн. конф. по природной очаговости болезней. М., 1989. С. 7.
- Покровский В. И., Онищенко Г. Г., Черкасский Б. Л. // Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина. М., 2003. 664 с.
- Покровский В. И. (ред.) // Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Т. 2. Медицина. М., 1993. 464 с.
- Помелова В. Г., Коренберг Э. И., Осин Н. С. и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010. № 1. С. 22.
- Помелова В. Г., Осин Н. С., Коренберг Э. И. и др. // Актуальные проблемы природной очаговости болезней. Изд. «Омский научный вестник». Омск, 2009. С. 61.
- Самович И. В. // Журн. невропатол. и психиатр. 1950. Т. 19, № 2. С. 19.
- Сапегина В. Ф. // Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов. Наука, Новосибирск, 1972. С. 388.
- Сарксян Д. С., Малинин О. В., Дьяченко И. И. и др. // Инфекц. и иммун. 2012. Т. 2, № 1–2. С. 194.
- Скрипникова И. А., Ананьева Л. П., Барскова И. Г., Ушакова М. А. // Тер. Архив. 1995. Т. 67, № 11. С. 53.
- Скрипникова И. А., Ананьева Л. П., Демина Р. Я. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 106.
- Смирнова Н. Н., Килевой И. В. и Кушнарева И. Г. // Природноочаговые болезни человека. Омск, 1996. С. 177.
- Субботин А. В., Попонникова Т. В. // Нейроборрелиоз у детей. «Летопись». Кемерово, 2001. 121 с.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010. № 5. С. 35.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 177.

- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Воробьева Н. Н. // Актуальные проблемы природной очаговости болезней. Изд. «Омский научный вестник». Омск, 2009. С. 65.
- Трофимов Н. М., Счесленок Е. П., Коренберг Э. И. и др. // Мед. паразитол. 1998. 34. С. 21.
- Ушакова Г. В., Филиппова Н. А. // Паразитология. 1968. Т. 2. С. 334.
- Фадеева И. А., Коренберг Э. И., Андрейчук Ю. В. // Мол. ген., микробиол. и вирусол. 2006 № 2. С. 33.
- Фадеева И. А., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. // ЖМЭИ. 2006а. № 3. С. 27.
- Фадеева И. А., Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Мол. ген., микробиол. и вирусол. 2005. № 3. С. 18.
- Филиппова Н. А. // Энтотомол. обозрение. 1969. Т. 48, № 3. С. 675.
- Филиппова Н. А. // Фауна СССР. Паукообразные. Т. IV, вып. 4. Иксодовые клещи подсем. *Ixodidae*. Наука. Л., 1977. 396 с.
- Филиппова Н. А. // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina, Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Наука. Л., 1985. С. 204.
- Филиппова Н. А. // Паразитология. 1990. Т. 24. № 4. С. 257.
- Филиппова Н. А. // Паразитология. 1999. Т. 33. С. 223.
- Фоменко Н. В., Боргояков В. Ю., Панов В. В. // Мол. ген. микробиол. вирусол. 2011. № 2ю С. 12.
- Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н., Романова Е. В. и др. // ЖМЭИ. 2006. № 7. С. 22.
- Фоменко Н. В., Романова Е. В., Караваева Ю. Ю. и др. // Бюлл. Сиб. мед. 2006а. Приложение 1. С. 93.
- Фризен В. И., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. № 5. С. 27.
- Фризен В. И., Коренберг Э. И., Афанасьева М. В. и др. // Инфекционные болезни. 2005. Т. 3, № 4. С. 39.
- Целищев А. М. // Тр. Томск. НИИЭМ. 1949. Т. 4. С. 4.
- Черногор Л. И. Эпидемиологические особенности клещевого боррелиоза в Предбайкалье. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Иркутск, 1999. 24 с.
- Черкасский В. И. // Инфекционные и паразитарные болезни человека. «Медицинская газета». М., 1994. 617 с.
- Шаповал А. Н., Анисимов Н. О., Коренберг Э. И. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 33.
- Шаповал А. Н., Кузнецова Р. И., Чурилова А. А. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 56.
- Шетекаури С. А., Марьяна Н. М., Солохина Д. В. // ЖМЭИ. 2005. № 1. С. 78.
- Шубин Н. В. // Тр. Томск. мед. ин-та. 1946. Вып. 13. С. 87.
- Шувалова Е. П. // Инфекционные болезни. Медицина. М., 1990. 559 с.
- Оуенкова Т. И. // Тр. Перм. Биомед. Ин-та. 1977. Т. 140. С. 79.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V. // Lime Borreliosis and Other Tick-Transmitted Diseases. Bialymstok. 1995. P. 16.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V. // J. Med. Entomol. 1996. Vol. 33, No. 3. P. 351.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V., Antykova L. P. et al. // J. Med. Entomol. 1998. Vol. 35, No. 2. P. 136.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V., Rijpkema S. G. T., Souls M. // Experim. Appl. Acorol. 1999. Vol. 23 (2). P. 165.
- Ananjeva L. P., Skripnikova I. A., Barskova V. G. and Steere A. // J. Rheumatol. 1995. Vol. 22, No. 4. P. 689.
- Anderson J. M. and Norris D. E. // Appl. Environ. Microbiol. 2006. Vol. 72 (8). P. 5331.
- Åsbrink E. and Hovmark A. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1988. Vol. 539. P. 4.
- Assou M., Postic D., Paul G. et al. // FEMS Microbiol. Lett. 1994. Vol. 121. P. 93.
- Bacon R. M., Pilgard M. A., Johnson B. J. B. et al. // J. Clin. Microbiol. 2004. Vol. 42, No. 5. P. 3226.
- Baranton G., Postic D. // Molecular Biology of Spirochetes. IOS Press. Amsterdam and al. city. 2006. P. 135.
- Baranton G., Postic D., Saint Girons I. et al. // Int. J. System. Bacter. 1992. Vol. 42, No. 3. P. 378.
- Barbour A. G. // The Pathogenesis of Bacterial Infections. Springer-Verlag. Berlin. Hidelberg. 1985. P. 235.
- Barbour A. G., Bunikis J., Travinsky B. et al. // Am. J. Trop. Mer. Hyg. 2009. Vol. 81. No. 1. P. 1120.
- Barbour A., Burgdorfer W., Hayes S. et al. // Curr. Microbiol. 1983. Vol. 8. P. 123.
- Barbour A. G., Hayes S. F. // Microbiol. ReVol. 1986. Vol. 50, No. 4. P. 381.
- Barbour A. G., Heiland R. A., Howe T. R. // J. Infect. Dis. 1985. Vol. 152. P. 478.
- Barbour A. G., Tessier S. L., Hayes S. F. // Infect. Immunol. 1984. Vol. 45. P. 94.
- Belfaiza J., Postic D., Bellenger E et al. // J. Clin. Microbiol. 1993. Vol. 31. P. 2873.
- Benach J. L., Coleman J. L., Skinner R. A., Bosler E. M. // J. Inf. Dis. 1987. Vol. 155. P. 1300.
- Bergström S., Noppa L., Gylfe Å., Östberg R. // Lime Borreliosis Biology, Epidemiology and Control. CABI Pud. Oxford. 2002. P. 47.

- Boerlin P., Peter O., Bretz A.-G. et al. // *Infect. Immun.* 1992. Vol. 60. P. 1677.
- Bosler E. M., Coleman J. L., Benach J. L. et al. // *Science.* 1983. Vol. 220. P. 321.
- Brade V., Kraiczy P. // *Lyme Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis.* Uni-Med. Bremen. 1999. P. 42.
- Brisson D., Vandermause M. F. Meece J. K. et al. // *EID.* Vol. 16, No. 6. P. 917.
- Bunikis J., Garpmo U., Tsao J. et al. // *Microbiology.* 2004. Vol. 150. P. 1741.
- Bunikis J., Tsao J., Garpmo U. et al. // *EID.* 2004a. No. 10. P. 1661.
- Burgdorfer W. // *Yale J. Biol. Med.* 1984. Vol. 57. P. 515.
- Burgdorfer W. // *Acta tropica.* 1951. Vol. 8, No. 3. P.193.
- Burgdorfer W. // *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 1989. Vol. 15, No. 4. P.775.
- Burgdorfer W. // *First Intern. Conf. on Tick-Borne Path. at the Host-Vector Interface: an Agenda for Research.* Proc. and Abstracts. Saint Paul. 1992. P. 111.
- Burgdorfer W., Barbour A. G., Hayes S. F. // *Science* 1982. Vol. 216. P. 1317.
- Burgdorfer W., Barbour A. G., Hayes S. F. et al. // *Acta tropica.* 1983. Vol. 40. P.79.
- Burgdorfer W., Hayes S. F., Benach J. L. // *Ann. New York Acad. Sci.* 1988. Vol. 539. P. 172.
- Burgdorfer W., Lane R. S., Barbour A. G. et al. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1985. Vol. 34. P.925.
- Canica M. M., Nato F., du Merle L. et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 25. P. 441.
- Casjens S. R., Huang W. M., Gilcrease E. B. et al. // *Molecular Biology of Spirochetes.* IOS Press. Amsterdam et al. city. 2006. P. 79.
- Chu C.-Y., Jiang B.-G. Liu W. et al. // *VBZ.* 2011. Vol. 11, No. 7. P. 877.
- Chu C.-Y., Liu W., Jiang B.-G. et al. // *J. Clin. Microb.* 2008. Vol. 46, No. 9. P. 3130.
- Derďáková M., Beati L., Pet'ko B. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69, No. 1. P. 509.
- Du Y., Tou X., Wu X. et al. // *Chin. J. Vector Biol. Contr.* 1990. Vol. 1, No. 6. P. 367.
- Dubinina H. V. // *Acarina.* 2000. 8 (2). P.125.
- Dykhuizen D. E., Polin D. S., Dunn J. J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. Vol. 90. P.10163.
- Eisen L., Lane R. S. // *Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control.* CAB International. Oxford. 2002. P. 91.
- Felsenfeld O. // *Borrelia. Strains, Vectors, Humman and Animal Borreliosis.* Warren H. Green, Inc. St. Louis. 1971. 180 p.
- Filippova N. A. // *Modern Acarology.* Academia. Prague. Vol. 1. 1991. P.109.
- Fingerle V., Rauser S., Hammer B. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2002. Vol. 40. P. 1456.
- Fukunaga M., Hamase A., Okada K. and Nakao M. // *Microbiol. Immunol.* 1996. Vol. 40. P.877.
- Fukunaga M., Hamase A., Okada K. at al. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1996a. Vol. 62. P. 2338.
- Fukunaga M., Sohnaka M., Yanagihara Y. // *J. General Microbiol.* 1993. Vol. 139. P. 1141.
- Gern L., Humair P.F., Hu C. M., Leuba-Garcia S. // *Tick-Borne Encephalitis and Lyme Borreliosis.* Pabst Science Publishers. Lengerich. 1997. P. 271.
- Gern L., Zhu Z., Aeschlimann A. // *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1990. Vol. 65, No. 2. P. 89.
- Girard Y. A., Travinsky B., Schotthoefer A. // *Appl. Environm. Microbiol.* 2009. Vol. 75, No. 22. P.7243.
- Comstedt P., Asociene L., Eliasson I. et al. // *PLoS ONE.* 2009. 4 (6). e5841.
- Gorelova N. B., Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. V., Shcherbakov S. V. // *Zbl. Bacteriol.* 1995. Vol. 282. P. 315.
- Gugliotta J. L., Goetherd H. K., Berardi V. P., Telford III S. R. // *New Engl. J. Med.* 2013. Vol. 368:3. P. 240.
- Hammer B., Miners T., Marangoni A. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2002. Vol. 291. P. 211.
- Hengge U. R., Tannappel A., Tyring S. K. et al. // *Lancet Inf. Dis.* 2003. Vol. 3. P. 489.
- Hoogstraal H. // *Bull. Entomol. Soc. Amer.* 1986. Vol. 32, No. 1. P. 22.
- Hu C. M., Humair P.F., Wallich R. and Gern L. // *Zbl. Bact.* 1997. Vol. 285. P. 558.
- Hubalek Z., Halouzka J. // *Parasitol. Res.* 1998. Vol. 84. P. 167.
- Hubalek Z., Juricova Z., Halouzka J. // *Folia Parasit.* 1990. Vol. 2. P. 49.
- Huegli D., Moret J., Rais O. et al. // *TTBD.* 2011. Vol. 2. P. 129.
- Humair P.F., Peter O., Wallich R., and Gern L. // *J. Med. Entomol.* 1995. Vol. 32 P. 433.
- Humair P.F., Rais O. and Gern L. // *Parasitology.* 1999. Vol. 118. P. 33.
- Isogai E., Isogai H., Kawabata H. et al. // *J. Wild. Dis.* 1994. Vol. 30. P.439.
- Isogai E., Isogai H., Masuzawa T. et al. // *Microbiol. Immunol.* 1996. Vol. 40. P. 13.
- Johnson R. C. // *Microbiology and Microbial Infections.* Topley & Wilson's. 1998. Vol. 2. P.1277.

- Johnson R. C. // Microbiology and Microbial Infections. Topley & Wilson's. 1998a. Vol. 3. P. 955.
- Johnson R. C., Fred W., Hyde B. S., Rumpel C. M. // Jale J. Biol. Med. 1984. P. 79.
- Kawabata H., Masuzawa T. and Yanagihara Y. // Micobiol. Immunol. 1993. Vol. 37. P.843.
- Keirans J. E., Oliver J. H., Needham G. R. // Proc. Of the First Intern. Conf. on Tick-Borne Pathogens at the Host-Vector Interface: an Agenda for Research. St. Paul.1992. P. 302.
- Kimura K., Isogai E., Isogai H. et al. // Appl. Environ. Micobiol. 1995. Vol. 61. P. 1641.
- Kjelland V., Ytrehus B., Stuen S. et al. // TTBD. 2011. Vol. 2. P. 99.
- Korenberg E. I. // Parasitology Today. 1994. No. 10 (4). P. 157.
- Korenberg E. I. // Present Status of Lyme Disease and Biology of Lyme Borrelia. Kanzasji et al. city. 1994a. P. 17.
- Korenberg E. I. // Reports of WHO Workshop on Lyme Borreliosis Diagnosis and Surveillance. 1995. Sanitati. Warsaw. WHO/CDC/VPH/95.141-1P. 128.
- Korenberg E. I. // Vector Ecology Newsletter. 1998. 29 (1). P. 4.
- Korenberg E. I., Gorelova N. B., Kovalevskii Yu. V. // Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control. CAB International. Oxford. 2002. P. 175.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. V., Gorelova N. B. // Int. J. Med. Microbiol. 2002a. Vol. 291 (33). P. 202.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Y. V., Kryuchevnikov V. N. and Gorelova N. B. // Modern Acarology. Academia. Prague. Vol. 1. 1991. P. 119.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Y. V., Levin M. L., Shchyogoleva T. V. // Folia Parasitol. 2001. No. 48. P. 63.
- Korenberg E. I., Kryuchevnikov V. N., Ananyina Yu. V., Chernukha Yu. G. // Zbl. Bact. Hyg. 1986. Reich A: B263. No. 3. P. 471.
- Korenberg E. I., Kryuchevnikov V. N. and Kovalevskii Y. V. // Eur. J. Epidemiol. 1993. No. 9 (1). P. 86.
- Korenberg E. I. and Lebedeva N. N. // Folia Parasitologica. 1969. Vol. 16. P. 143.
- Korenberg E., Likhacheva T. // Intern. J. Med. Microbiol. 2006. Vol. 296, No. 1. P. 54.
- Korenberg E. I., Moskvitina G. G. // J. Vector Ecology. 1996. Vol. 21, No. 2. P. 178.
- Korenberg E. I., Moskvitina G. G., Vorobyeva N. N. // Proceed. VI Intern. Conf. on Lyme Borreliosis. Soc. Ed. Esculapo. Bologna. 1994. P. 209.
- Korenberg E. I., Nefedova V. V., Fadeeva I. A., Gorelova N. B. // Molecular Biology of Spirochetes. IOS Press. Amsterdam et al. city. 2006. P. 174.
- Korenberg E. I., Nefedova V. V., Romanenko V. N. and Gorelova N. B. // 2010. VBZ. Vol. 10, No. 5. P. 453.
- Kovalevskii Y. V. and Korenberg E. I. // Experiment. Appl. Acorol. 1995. Vol. 19. P. 19.
- Krampitz H. E. // Zbl. Bact. Hyg. 1986. A. Vol. 263. P. 21.
- Krause P. J., Narasimhan S., Wormser G. P. et al. // New Engl. J. Med. 2013. Vol. 368 (3). P. 291.
- Kurtenbach K., Peacey M., Rijpkema S. G. T. et al. // Microbiology. 1998. Vol. 64. P. 1169.
- Kurtenbach K., Sewell H.-S., Odgen N. H. et al. // Infect. Immun. 1998a. Vol. 66. P. 1248.
- Kurtenbach K., Schäfer S. M., de Michelis S. et al. // Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control. CAB International. Oxford. 2002. P. 117. // J. Clin. Microbiol. 2003. Vol. 41, No. 11. P. 5059.
- Lane R. S. // Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1987. Vol. 37. No. 1. P.188.
- Leonhard S., Jansen K., Salkeld D., Lane R. S. // VBZ. 2010. Vol. 10 (5). P.441.
- Livanova N. N., Morozova O. V., Morozov I. V. et al. // Eur. J. Epideemiol. 2003. Vol. 18. P. 1155.
- Liveris D., Gazumyan A., and Schwartz I. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33. P. 589.
- MacDonald A. B. // Zbl. Bact. Hyg. 1986. Bd. 263. A. S.189.
- Maraspin V., Ruzic-Sabljić E., Cimperman J. et al. // Infection. 2001. Vol. 29. P. 65.
- Margos G., Gatewood A. G., Aanensen D. M. et al. // PNAS. 2008. Vol. 105, No. 25. P. 8730.
- Margos G., Hojgaard A., Lane R. S. et al. // Ticks and Tick-Borne Diseases. 2010. Vol. 1. P. 151.
- Margos G., Vollmer S. A., Cornet M. // Appl. Environm. Microbiol. 2009. Vol. 75, No. 16. P. 5410.
- Margos G., Vollmer S. A., Ogden N. H., Fish D. // Infect. Gen. Evolut. 2011. No. 11. P. 1545.
- Marsot M., Sigaud M. // Appl. Environment. Microbiol. Vol. 77 (16). P. 5716.
- Martens H. D., Martin R., Kohlhepp W. // J. Neuroimmunol. 1988. Vol. 20. P. 309.
- Marti R., Lascola B., Postic D. et al. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1996. Vol. 46. P. 859.
- Masuzawa T. // Jpn. Infect. Dis. 2004. Vol. 57. P. 229.

- Masuzawa T., Fukui T., Miyake M. et al. // *Int. J. Syst. Bacter.* 1999. Vol. 49. P.1409.
- Masuzawa T., Iwaki A., Sato Y. et al. // *Microbiol. Immunol.* 1997. Vol. 41, No. 8. P. 595.
- Masuzawa T., Komikado, T., Iwaki, A. et al. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1996. Vol. 142. P. 77.
- Masuzawa T., Okada Y., Beppu Y. et al. // *Jap. Microbiol. Immunol.* 1991. Vol. 35. P. 913.
- Masuzawa T., Suzuki H., Kawabata H. et al. // *Jap. J. Wildl. Dis.* 1996a. Vol. 32. P. 565.
- Matuschka F.R., Spielman A. // *Exp. Appl. Acarol.* 1986. No. 2. P. 337.
- Mediannikov O. Y., Ivanov L., Zdanovskaya N. et al. // *Microbiol. Immunol.* 2005. Vol. 49, No. 3. P. 191.
- Miyamoto K., Masuzawa T. // *Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control.* CAB International. Oxford. 2002. P. 201.
- Miyamoto K., Nakao M., Uchikava K. and Fujita H. // *J. Med. Entomol.* 1992. Vol. 29. P.216.
- Monin R., Gern L., Aeshlimann A. // *Zbl. Bact.* 1989. Suppl. 18. P. 14.
- Mun J., Eisen R.J., Eisen L. and Lane R. // *J. Med. Entomol.* 2006. Vol. 43, No. 1. P. 120.
- Nadelman R. B. and Wormser G. P. // *Clin. Infect. Dis.* 2007. Vol. 45 (8). P. 1032.
- Nakao M. and Miyamoto K. // *Jap. J. San. Zool.* 1992. Vol. 43. P. 343.
- Nakao M. and Miyamoto K. // *Jap. J. San. Zool.* 1993. Vol. 44. P. 49.
- Nakao M., Miyamoto K., Uchikava K. and Fujita H. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992. Vol. 47. P. 505.
- Nefedova V. V., Korenberg E. I., Gorelova N. B., Kovalevskii Y. V. // *Folia parasitologica.* 2004. Vol. 51. P. 67.
- Oshaghi M., Rafinejad J., Choubdar N. et al. // *VBZ.* 2011. Vol. 11. No. 3. P.201.
- Pal U., Anderson J. F. and Fikrig E. // *Molecular Biology of Spirochetes.* IOS Press. Amsterdam et al. city. 2006. P. 345.
- Piesman J. // *J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 167. P. 1082.
- Piesman J. // *Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control.* CAB International. Oxford. 2002. P. 223.
- Piesman J., Donahue J. G., Mather T. N., Spielman A. // *J. Med. Entomol.* 1986. Vol. 23. P. 219.
- Piesman J., Mather T. N., Sinsky R. J., Spielman A. // *J. Clin. Microbiol.* 1987. Vol. 25, No. 3. P. 557.
- Piesman J., Moupin G. O., Campos E/G., Happ Ch. // *J. Infect. Dis.* 1991. Vol. 163. P. 895.
- Postic D., Assous, M., Grimont, P., Baranton G. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1994. Vol. 44. P. 743.
- Postic D., Garnier M., Baranton G. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 2007. 297. P. 263.
- Postic D., Korenberg E., Gorelova N. et al. // *Res. Microbiol.* 1997. Vol. 148. P. 691.
- Randolph S. E. // *Microbe-Vector Interaction in Vector-Borne Diseases.* Cambridge Univ. Press. 2004. P. 19.
- Rehaček J., Kmety E., Kocianova E. et al. // *Modern Acarology. Academia.* Prague. 1991. Vol. 2. P. 61.
- Ribeiro J. M.C., Mather T.N., Piesman J., Spielman A. // *J. Med. Entomol.* 1987. Vol. 24. P.201.
- Richter D., Postic D., Sertour N. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006. Vol. 56. P. 873.
- Rosa P. A., Tilly K., Stewart P.E. // *Microbiology.* 2005. No. 3. P. 129.
- Rudenko N., Golovchenko M., Grubhofer L. and Oliver J.H. // *J. Clin. Microbiol.* 2009. Vol. 47. No. 1. P. 2009.
- Rudenko N., Golovchenko M., Grubhofer L. and Oliver J.H. // *TTBD.* 2011. Vol. 2. P. 123.
- Rudenko N., Golovchenko M., Lin T. // *J. Clin. Microbiol.* 2009. Vol. 47, No. 12. P. 3875.
- Rudenko N., Golovchenko M., Mokráček A. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2008. Vol. 46, No. 2. P. 3540.
- Ružič'-Sabljic E., Arnez M., Logar M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2005. 43, No. 5. P. 2194
- Ružič'-Sabljic E., Maraspin V., Lotrič-Furlan S. et al. // *Wien Klin. Wochenschr.* 2002. Vol. 114/13-14. P. 544.
- Sato Y., Miyamoto K., Iwaki A. et al. // *Appl. Environm. Microbiol.* 1996. Vol. 62, No. 10. P. 3887.
- Schlesinger P. A., Duray P.H., Burke B. A. et al. // *Ann. Intern. Med.* 1885. Vol. 103, No. 1. P. 67.
- Schwan T. G., Raffel S. J. Schrumpf M. E. et al. // *VBZ.* 2009. Vol. 9, No. 6. P. 643.
- Scott M. C., Rosen M. E. et al. // *J. Med. Entomol.* 2010. Vol. 47, No. 6. P. 1238.
- Seint Girons E., Gern L., Gray J. S. et al. // *Zbl. Bact.* 1998. Vol. 287. P. 190.
- Sigal L. H., Zahradnik J. M., Lavin P. et al. // *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 339. P. 216.
- Skuballa J., Petney T., Pfäffle et al. // *TTBD.* 2012. Vol. 3. P. 8.
- Smith L. G., Pearlman M., Faro S. // *Obsted. Gynec. Sure.* 1991. Vol. 46, No. 3. P. 125.
- Stanek G., Burger J., Hirschl A. // *Zbl. Bact. Hyg.* 1986. A. Vol. 263. P. 29.
- Stanek G., O'Connell S., Cimmino M. et al. // *Win. Clin. Woch.* 1996. Vol. 108/23. P. 741.
- Stanek G., Satz N., Strle F., Wilske B. // *Aspects of Lyme borreliosis.* Springer-Verlag. Berlin. 1993. P. 358..
- Stanek G., Strle F., Gray J., Wormser G. P. // *Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control.* CABI Pud. Oxford. 2002. P. 1.
- Steere A. C. // *New England J. Med.* 2001. Vol. 345. P.115.

- Steere A. C., Bartenhagen N. H., Craft J. E. et al. // *Ann. Intern. Med.* 1983. Vol. 99. P. 76.
- Steere A. C., Malawista S. E., Hardin J. A. et al. // *Ann. Intern. Med.* 1977. Vol. 86. P. 685.
- Steere A. C., Malawista S. E., Snyderman D. R. et al. // *Arthritis Rheum.* 1977a. Vol. 20. P. 7.
- Schwartz L., Wang G., Iyer R. et al. // *Molecular Biology of Spirochetes.* IOS Press. Amsterdam et al. city. 2006. P. 124.
- Schulze T. L., Lakat M. F., Parkin W. E. et al. // *Zbl. Bact. Hyg.* 1986. A 263. P. 72.
- Takano A., Nakao M., Masuzawa T. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2011. Vol. 49. No. 5. P. 2035.
- Talleklint L. and Jeanson T. G. T. // *J. Med. Entomol.* 1993. Vol. 30. P. 273.
- Talleklint L. and Jeanson T. G. T. // *J. Med. Entomol.* 1994. Vol. 31. P. 880.
- Taylor K. R., Takano A., Konnai S. et al. // *VBZD.* 2013. Vol. 13 (2). P. 92.
- Wallach F. R., Forni A. L., Hariprashad J. et al. // *J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 168. P. 1541.
- Wang G., van Dam A. P., Dancert G. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37, No. 9. P. 3025.
- Wang G., van Dam A. P., Spanjaard L., Dankert J. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36, No. 3. P. 768.
- Will G., Jauris-Heipke S., Swab E. et al. // *Med. Microbiol. Immunol.* 1995. Vol. 184. P. 73.
- Wilske B. // *VBZD.* 2003. Vol. 3, No. 4. P. 215.
- Williams C. L., Strobino B. A. // *Lime Disease.* New York. 1990. P. 48.
- Wilske B., Busch U., Fingerle V. et al. // *Infection.* 1996. Vol. 24. P. 208.
- Wilske B., Fingerle V., Schulte-Spechtel U. // *Molecular Biology of Spirochetes.* IOS Press. Amsterdam et al. city. 2006. P. 146.
- Wilske B., Stenhuber R., Bergmeister H. et al. // *Dtsch. Med. Wschr.* 1987. Vol. 112. P. 1730.
- Wodecka B., Leońska A., and Skotarczak B. // *J. Med. Microbiol.* 2010. Vol. 59. P. 309.
- Yong D., Xiyang T. L., Xiaoming W., Zhang Q. // *Chin. Vector Biol. Control J.* 1990. No. 6. P. 367.
- Younsi H., Postic D., Baranton G., Bouattour A. // *Eur. J. Epidemiol.* 2001. Vol. 17. P. 53.
- Zung J. L., Lewengrub S., Rudzinska M. A. et al., // *Can. J. Zool.* 1989. Vol. 67. P. 1737.

4. Моноцитарный эрлихиоз (МЭЧ) и гранулоцитарный анаплазмоз (ГАЧ) человека

4.1. Определения. Названия нозологических форм. Краткая историческая справка

Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) [Human Monocytic Ehrlichiosis (HME)] и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) [Human Granulocytic Anaplasmosis (HGA)] — это классические природноочаговые, передающиеся иксодовыми клещами облигатно-трансмиссивные инфекции, вызываемые облигатно-внутриклеточными грамм-отрицательными протеобактериями родов *Ehrlichia* и *Anaplasma*, которые размножаются в цитоплазматических вакуолях лейкоцитов и вызывают острые гриппоподобные лихорадочные заболевания. Как понятно уже из названия этих инфекций, возбудитель МЭЧ поражает моноциты и мононуклеарные фагоциты, а ГЭЧ — гранулоциты, обычно нейтрофилы.

Различные эрлихии были давно известны как возбудители заболеваний животных в Америке, Европе, Индии и Южной Африке, а проблема эрлихиозов интересовала только ветеринарию. Ситуация начала очень быстро меняться с 1987 г., после того как в США у пациента из Fort Chaffee (Арканзас) был описан первый случай МЭЧ, названный моноцитотропным эрлихиозом человека (Maeda et al., 1987). ГАЧ впервые выявлен в США в 1991 г., а его этиология установлена в 1994 г. (Rikihisa, 1991; Bakken et al., 1994; Chen et al., 1994). В Европе первый случай МЭЧ был обнаружен в Португалии (Morais et al., 1991), а первый случай ГАЧ — в Словении (Petrovec et al., 1997). В эти годы возбудителей относили к разным геногруппам рода *Ehrlichia*, отличающимся по характеру структуры генома, а оба заболевания называли эрлихиозами, соответственно МЭЧ и ГЭЧ.

Поначалу полагали (Maeda et al., 1987; Manian et al., 1989; McDade, 1990; Fishbein et al., 1994), что заболевание МЭЧ вызывает *E. canis*, известная с 1935 г., передающаяся клещами *Ripcephalus sanguineus* и широко распространенная среди собак (Rikihisa, 1991), в том числе и в России. Однако довольно быстро было показано, что возбудитель МЭЧ, который удалось выделить из крови пациентов в штатах

Арканзас и Оклахома — это близкий к *E. canis* (Dawson et al., 1991), но самостоятельный вид, получивший название *E. chaffeensis* (Anderson et al., 1991). Затем был описан еще один возбудитель эрлихиоза собак — *E. ewingii* (Anderson et al., 1992). Кроме этих видов, в геногруппу I были объединены (Walker, Dumler, 1996) *E. muris* и *Cowdria ruminantium*, патогенные для диких и домашних копытных. Из перечисленных эрлихий способность вызывать заболевание у человека на тот момент была известна только для *E. chaffeensis*. Возбудитель ГЭЧ, еще не получивший тогда окончательный видовой статус, был отнесен в геногруппу II вместе с распространенной среди лошадей и, по мнению некоторых специалистов (Dawson, Marty, 1997), очень сходной с ним *E. equi*, а также с уже известной *E. phagocytophila*, распространенной среди овец и крупного рогатого скота (Chen et al., 1994). В нее вошли также непатогенные для человека *E. microti* — паразит полевков, *E. platys* — паразит лам, а также микроорганизмы рода *Anaplasma*: *A. marginale*, хозяева которой — крупный рогатый скот, и *A. ovis* — паразит овец (Walker, Dumler, 1996). Стало понятно, что в таксономию эрлихий специалистами будут внесены существенные изменения (Коренберг, 1999а), что вскоре и произошло (раздел 4.2).

Существование природных очагов обоих возбудителей в России впервые показано в Пермском крае совместными российско-американскими группами исследователей. Возбудитель МЭЧ был индицирован методом ПЦР и последующим секвенированием ампликонов у взрослых голодных клещей *I. persulcatus*, собранных с растительности; заболевания серологически верифицированы в нРИФ с помощью антигена, приготовленного в США, у пациентов, заболевших в г. Перми после укуса клеща. Молекулярно-биологическими методами показано, что эрлихии, циркулирующие в природном очаге и вызывающие заболевания, с высокой вероятностью относятся к виду *E. muris*, а не к *E. chaffeensis* — возбудителю МЭЧ в США (Ravyn et al., 1999). Затем *E. muris* была деактивирована в клещах *I. persulcatus* на северо-западе России (Alekseev et al., 2001). Вид *E. muris* описан (Wen et al., 1995) по изолятам (Kawachara et al., 1993) от так называемых южнокитайских полевков, которые близки к широко распространенным в Евразии лесным полевкам рода *Clethrionomys* (или *Myodes*). До упомянутых данных, полученных в Пермском крае, о патогенности *E. muris* для человека ничего не было известно.

В тех же таежных лесах Приуралья (Чусовской район Пермского края) в 1993 г. впервые в России было установлено, что около 12 % рыжих полевков (*Cl. glareolus*) заражены возбудителем ГЭЧ (Telford S. R. III et al., 2002). Приоритет этих данных зафиксирован депонированием первых из нашей страны сиквенсов *A. phagocytophilum* в GenBank (№№ доступа AY094352, AY094353). Проведенное позднее (Нефедова и др., 2008) сравнение результатов секвенирования ампликонов, полученных при исследовании крови больных людей, с последовательностями нуклеотидов на участке гена 16S рРНК *E. muris* и *A. phagocytophilum* у ампликонов от клещей из данного региона показало, что их сходство составляет 99,7–100 %. В дополнение к положительным результатам серологических исследований (Григорян и др., 2000; Фризен и др., 2004), эти данные подтвердили досто-

верность диагнозов МЭЧ и ГАЧ у пациентов, заболевших после контакта с таежным клещом в Пермском крае. Эрлихии комплекса *E. phagocytophila* и *Ehrlichia*-like виды, как их назвали авторы (Alekseev et al., 2001), детектированы в клещах *I. ricinus*, собранных вблизи Санкт-Петербурга и в Калининградской области.

Эти находки высветили совершенно новую для нашей страны проблему инфекционной патологии и медицинской акарологии. Стало ясно, что анаплазмоз представляет серьезную опасность для населения лесной зоны России. Вместе с тем было обращено внимание на то, что помимо микроорганизмов, вызывающих эрлихиозы человека, широкое распространение имеют разные виды непатогенных для людей эрлихий. Поэтому совершенно недопустимо упрощенное и поверхностное отношение к методам индикации и идентификации патогенных форм, а также к диагностике МЭЧ и ГАЧ (Коренберг. 1999, 1999а, 2000, 2000а, 2002).

Сведения по этим инфекциям, накопленные в нашей стране за прошедшие годы, преимущественно представляют собой результаты лабораторной индикации их возбудителей методом ПЦР у животных и клинико-лабораторного обследования пациентов. Распространение природных очагов и биологические особенности циркулирующих в них возбудителей, эпизоотология и многие аспекты эпидемиологии МЭЧ и ГАЧ остаются почти не изученными по двум основным причинам: 1) сложность изоляции и культивирования эрлихий и анаплазм (раздел 4.2), требующая значительных финансовых затрат; 2) отсутствие до 2013 г. обязательной статистической отчетности по этим инфекциям региональных учреждений санэпиднадзора, что не стимулировало накопление соответствующей информации, касающейся подведомственных им территорий и в итоге РФ в целом. Поэтому этот раздел книги, призванный отразить состояние изученности МЭЧ и ГАЧ в нашей стране, неизбежно окажется более фрагментарным, чем посвященные КЭ и ИКБ, и будет содержать ряд предположений, которые в дальнейшем предстоит подтвердить или опровергнуть и которые в необходимых случаях основаны на зарубежных фактических данных.

4.2. Возбудители

4.2.1. Таксономия

Возбудители МЭЧ (*E. chafensis* и *E. muris*) относятся к семейству *Anaplasmataceae*, роду *Ehrlichia*; возбудитель ГАЧ (*Anaplasma phagocytophilum*) — к роду *Anaplasma* того же семейства. Кроме этих родов, к семейству *Anaplasmataceae* относятся роды *Neorickettsia* и *Wolbachia*. Представители рода *Neorickettsia* распространены главным образом среди гидробионтов; от них на юге Японии люди заражаются довольно редкой лихорадкой сэннетсу, этиологию которой связывают с *N. sennetsu*. Виды рода *Wolbachia* известны, в частности, как симбионты различных членистоногих. Согласно прежней классификации, в порядок *Rickettsiales* входила доволь-

но обширная триба *Ehrlichiae*. По результатам молекулярно генетических исследований была пересмотрена старая классификация (Bakken, Dumler, 2000; Dumler et al., 2001; рис 4.1) и, в частности, выделены роды *Ehrlichia* (в нем остались возбудители МЭЧ, а также *E. ewingii*, *E. canis*, *E. ruminantium*) и *Anaplasma*, к которому отнесен вид *A. phagocytophilum* — возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ), называвшегося ранее гранулоцитарным эрлихиозом человека (ГЭЧ) с этиологическим агентом *Ehrlichia phagocytophila*, и еще 4 вида анаплазм: *A. marginale*, *A. platys*, *A. bovis*, *A. centrale* (Рудаков, 2010).

Недавно описан «кандидат» нового рода («candidates *Neoehrlichia*»), включающий пока два вида. Наиболее обсуждаемый из них — *N. micurensis* (Kawahara et al., 2004), который, как оказалось, ранее идентифицирован у нескольких видов клещей и грызунов в разных странах и был известен под различными названиями. Последние исследования показали, что *N. micurensis* по трем генетическим маркерам близка или идентична с *E. schotti* (Jahfari et al., 2012). Иными словами, видовой статус этих бактерий, как и таксономический статус рода *Neoehrlichia* пока не ясен, и делать какие бы то ни было виртуальные «филогенетические» построения, не имея в руках изолятов (Rar and Golovljova, 2011), по меньшей мере преждевременно.

Иксодовые клещи как обширная глобально распространенная, экологически и таксономически разнообразная группа членистоногих, несомненно, таят в себе еще множество пока неизвестных коэволюционно связанных с ними форм микроорганизмов, включая эрлихий и анаплазм (Shibata et al., 2000; Wen et al., 2002; Parola et al., 2001, 2003; Inocuma et al., 2004; Matsumoto et al., 2007; Takano et al., 2009; Pap и др. 2011a). Совершенно очевидно, что при современных широко практикуемых

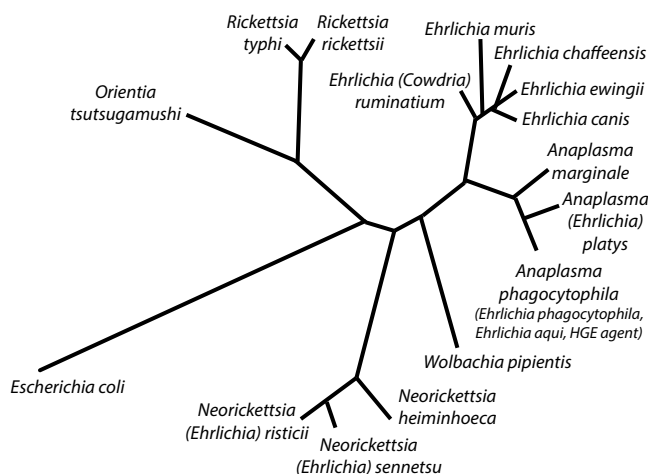


Рис. 4.1. Филограмма эволюционных взаимоотношений родов *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Wolbachia*, *Neorickettsia*, *Orientia* и *Rickettsia*, основанная на структуре 16S rRNA гена (Dumler and Walker, 2001; Dumler et al., 2005)

молекулярно-биологических способах индикации микроорганизмов поток публикаций на эту тему, несомненно, будет увеличиваться, но подавляющее большинство таких находок окажется непатогенными для человека симбионтами (в широком общебиологическом понимании этого термина) клещей и других членистоногих (раздел 1.3).

Эрлихии и анаплазмы — грамотрицательные внутриклеточные парази-

ты, размножающиеся в вакуолях, соответственно, моноцитов и гранулоцитов, в которых образуют микроколонии — так называемые морулы (Rikihisa, 2011). Эти микроорганизмы существуют в двух морфологически различных формах: плотные клетки [DC] и ретикулярные клетки [RC] (Popov et al., 1995, 1998; рис 4.2.). DC-формы преобладают в течение первых 24 часов после инфицирования и имеют решающее значение для адгезии бактерий. К 48 часам после заражения преобладают RC-формы, которые размножаются путем бинарного деления. Через 72 часа после заражения RC-формы, созревая, превращаются внутри инфицированной клетки хозяина в DC-формы и, разрушая, покидают ее, чтобы начать новый цикл размножения (Ohashi et al., 1998; Popov et al., 2007; Zhang et al., 2007).

Эрлихии и аноплазмы имеют мелкие размеры (0,5–1,5 мкм) и вариабильную морфологию, очень сходную у различных видов. Даже электронномикроскопические методы не выявляют отличия не только, например, между *E. canis* и *E. chaffeensis* (Dawson, Marty, 1997), но и между отдельными клетками эрлихий и анаплазм. Некоторое ультраструктурное своеобразие обнаруживается только в характере их взаимоотношений с клетками хозяина (Popov et al., 1998). Однако в целом видовая идентификация этих микроорганизмов, и следовательно этиологическая верификация эрлихиозов и анаплазозов микроскопическими методами, практически невозможна. При этом причиной заболевания собак, например, могут быть разные возбудители, причем проявления у них эрлихиоза, вызванного *E. chaffeensis*, серологически и клинически трудно отличимы или неотличимы от проявлений заболеваний, вызванных *E. canis* или *E. ewingii* (Breitschwerdt et al., 1998; Murphy et al., 1998). При соответствующей специальной подготовке и окраске фиксированного препарата по Романовскому (Telford III et al., 1996) в принципе возможно выявить у клещей эрлихии методами прямой микроскопии, однако совершенно невозможно судить о видовой принадлежности обнаруженных микроорганизмов. Темнопольная микроскопия витальных препаратов, которую пытались применить для индикации эрлихий (Alekseev et al., 1998), как известно, вообще не по-

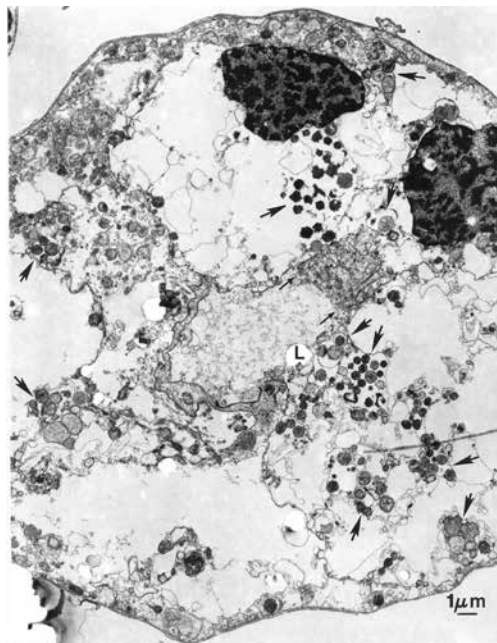


Рис. 4.2. Микроколонии (показаны стрелками) эрлихий (возможно *E. muris*) в дольке слюнной железы клеща *I. persulcatus*. Эрлихии представлены обоими формами цикла развития: ретикулярными и плотными клетками. L — просвет дольки слюнной железы. Меньшие стрелки указывают на микроворсинки эпителиальных клеток, выстилающих просвет (Popov et al., 2007).

зволяет сколько-нибудь достоверно судить о наличии или отсутствии микроорганизмов порядка *Rickettsiales*, включая эрлихий.

Лабораторное культивирование возбудителей МЭЧ и ГЭЧ сопряжено с определенными сложностями: они пролиферируют на культурах клеток гистоцитомы собак [линия DH82] (Dawson et al., 1991) и лейкемии человека [линия HL-60] (Fishbein et al., 1987; Guy et al., 1998). Это сдерживает как их изучение, так и возможности получения большого количества антигена для массовой серологической диагностики.

4.2.2. Внутривидовое разнообразие

Как боррелиям (раздел 3.2.2), так и всем другим микроорганизмам, эрлихиям и анаплазмам свойственно разнообразие, имеющее внутривидовое таксономическое значение, и генетически контролируемая адаптивная изменчивость. В разных регионах США, например, были обнаружены генетически отличающиеся типы *E. chaffeensis* (Yu et al., 1997). Различия в структуре некоторых участков генома, как полагают (Cheng et al., 2003), могут быть результатом процесса селекции или независимой изменчивости генов. Выявлены три антигенно различные варианта поверхностного мембранного белка 28-kDa, которые контролируются экспрессией различных участков гена *p28* (Lond et al., 2002).

Методом ПЦР-ПДРФ гена *p44* среди 24 изолятов от людей, лошадей, собак, мелких млекопитающих 7 видов и клещей *I. spinipalpis* из разных мест США обнаружены 6 вариантов *A. phagocytophilum* (Carter et al., 2001). Для этой бактерии характерна значительная внутривидовая изменчивость сравнительно консервативных участков генома: выявлены 10 вариантов сиквенсов гена *msp4*, а также 7 вариантов нуклеотидных последовательностей 16S rRNA гена и 11-*groEL* гена, которые образуют на дендрограмме 2 кластера (Silaghi et al., 2011). Сиквенсы участков этих двух генов демонстрируют наличие в Словении двух генетических вариантов *A. phagocytophilum* (Petrovec et al., 2002), один из которых обнаруживается у европейских косуль (*Capreolus capreolus*), а другой у благородных оленей (*Cervus elaphus*). У корейских водяных оленей (*Hydropotes inermis sargiropus*) обнаружены 5 вариантов структуры и несколько различных последовательностей *ankA*, *groEL*, *msp2* генов, которые авторы (Kang et al., 2011) называют генотипами, причем некоторые из них ранее не были известны. На основании анализа результатов секвенирования ампликонов участка 16S рРНК гена и *groESL* оперона *A. phagocytophilum*, полученных от клещей *I. persulcatus* и мелких млекопитающих из азиатской части России, выделены 3 группы сходных сиквенсов: I — детектирована у лесных полевок из Западной Сибири и Дальнего Востока, а также у таежных клещей из разных частей этой территории; II — у уральских лесных полевок (г. *Clethrionomys*) и обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*); III — у бурундуков (*Tamias sibiricus*) Западной Сибири и Дальнего Востока и таежных клещей из всех регионов, где они были собраны (Rar et al., 2011). Эти же авторы сообщили о 5 вариантах последовательностей рРНК гена (Rar и др., 2011). Изоляты, полу-

ченные в Японии от клещей *I. ovatus* и *I. persulcatus*, по своей генетической структуре несколько отличались друг от друга (Wuritu et al., 2009). Совокупность приведенных данных позволяет предполагать, что сегодняшнее название вида *A. phagocytophilum* с его громадным ареалом и разнообразием резервуарных хозяев и переносчиков (разделы 4.3 и 4.4) очевидно относится к группе близких бактерий *A. phagocytophilum sensu lato*, которая включает и непатогенные для человека формы (Portillo et al., 2005).

4.3. Распространение природных очагов

Возбудители группы МЭЧ выявлены серологическими или молекулярно-биологическими методами у иксодовых клещей, а также в большинстве штатов США, в большинстве европейских и в ряде азиатских стран Юго-Восточной Азии, а также в Южной Америке и в некоторых африканских странах. Это свидетельствует о широком распространении трансмиссивных эрлихиозов.

ГАЧ в США распространен главным образом в северо-восточной части страны, на среднем Западе и в Северной Калифорнии, а в Европе — в основном в ее северо-западной и восточной части, где паразитарные системы этого возбудителя связаны с клещом *I. ricinus*. В связи с обширным ареалом клеща *I. persulcatus* природные очаги анаплазмоза должны быть широко распространены в лесной зоне Евразии (Коренберг, 2002). Это положение постепенно подтверждается. К настоящему времени геномный материал возбудителя ГАЧ (и МЭЧ) детектирован в клещах практически из всех регионов, откуда они были собраны для исследования, от Северо-Запада до Дальнего Востока страны (Telford S. R. III et al., 2002; Шпынов и др., 2004; Rar et al., 2005; Иголкина и др., 2006; Korenberg et al., 2006; Shrupov et al., 2006; Popov et al., 2007; Нефедова и др., 2008; Рудаков, 2010; Рудаков и др., 2006, 2012; Пар и др., 2011, 2011a), а случаи ГАЧ диагностированы во многих субъектах Российской Федерации (Воробьева и др., 2000; Григорян и др., 2000; Сидельников и др., 2002; Оберт и др., 2007; Алешковская и др., 2008; Ермак, 2009; Пеньевская и др., 2009; Гришечкин и др., 2011).

4.4. Эпизоотология

4.4.1. Резервуарные хозяева и переносчики патогенных для человека эрлихий и анаплазм

В США основными резервуарными хозяевами *E. chaffeensis* считают (Walker et al., 2004) белохвостых оленей (*Odocoileus virginianus*); антитела к этому возбудителю в высоких титрах обнаружены более чем у 40 % копытных. При их экспериментальном заражении эти эрлихии присутствовали в крови животных по меньшей мере 2 недели, а антитела появлялись через 10 дней после инокуля-

ции возбудителя, причем признаки заболевания не обнаружены (Ewing et al., 1995; Lockhart et al., 1996). Олени, которым вводили *E. canis*, не заражались и не давали сероконверсию (Dawson et al., 1994). Специфические антитела выявлены также у третьей части исследованных кабанов (*Sus scrofa*), 42 % американских енотов (*Procyon lotor*) и почти 16 % опоссумов (*Didelphis virginiana*) (Castellaw et al., 2011). Потенциальный резервуар *E. chaffeensis* — койоты, собаки и лошади (Dumler and Bakken, 1995; Dawson et al., 1996; Ismail, 2010). Резервуарные хозяева и переносчики *E. muris* еще слабо изучены. В Японии изоляты были получены от южнокитайских полевков (*Eothenomys kageus*) и лесных мышей *Apodemus speciosus* и *A. argenteus* (Kawachara et al., 1993, 1999); ДНК *E. muris* обнаружена там у *Cervus nippon* — пятнистых оленей (Tamamoto et al., 2007). По всей видимости, хозяевами этих эрлихий могут быть разные виды мышевидных грызунов, особенно лесные полевки рода *Clethrionomys* и, возможно, другие млекопитающие. К числу переносчиков с большой долей вероятности в Евразии относятся клещи *I. persulcatus* (Ravyn et al., 1999; Alekseev et al., 2001; Шпынов и др., 2004; Rar et al., 2005) и *I. ricinus* (Spitalská et al.), а в Японии — *Haemaphysalis flava*, *I. ovatus* и (Kawachara et al., 1998, 1999) и *I. granulatus* (Takano et al., 2009). ДНК *E. muris* в азиатской части России обнаружена (Пап и др. 2011a) у 5,1–7,6 % лесных полевков трех видов, у 3,1–5,5 % обыкновенных бурозубок, 3,8 % восточноазиатских мышей (*Apodemus peninsulae*).

Антитела к возбудителю ГАЧ обнаружены в США у нескольких видов диких грызунов (Nicholson et al., 1998), у белохвостых оленей. По всей видимости, *A. phagocytophilum* имеет широкий круг резервуарных хозяев, включающий различных млекопитающих и птиц (Keesing, 2012). Судя по индикации видоспецифической ДНК, хозяевами возбудителя ГАЧ, очевидно, в разных регионах могут быть самые различные мышевидные и более крупные грызуны, насекомоядные, особенно ежи (Silaghi et al., 2012), дикие копытные, включая зубров, хищные, вплоть до медведей, лошади, овцы, собаки и жвачные (Dumler and Bakken, 1995; Belongia et al., 1997; Ewing et al., 1997; Ogden et al., 1998; Magnarelli et al., 1999; Pusterla et al., 1999; Liz et al., 2000, 2002; Castro et al., 2001; Levin et al., 2002; Bown et al., 2003; Grzeczczuk et al., 2004; Massung et al., 2005; Ladbury et al., 2008; Vichova et al., 2010; Zhan et al., 2010; Rar et al., 2011; Пап и др. 2011a; Clark, 2012; Michalik, 2012; и др.), однако их роль как резервуарных хозяев анаплазм остается неясной, поскольку наличие ДНК по сути дела свидетельствует лишь о контакте животных с возбудителем и не позволяет достоверно судить об их роли в эпизоотическом процессе (раздел 7.4.4). В США, как и в природных очагах Лайм боррелиоза, наибольшее значение в этом отношении придают мелким млекопитающим, особенно белоногим хомячкам (*Peromyscus leucopus*), которые в экспериментальных условиях передавали *A. phagocytophilum* питающимся на них клещам *I. scapularis* и воспринимали от них анаплазм (Telford III et al., 1996; Levin, Fish, 2000). У овец после экспериментального заражения этими анаплазмами их ДНК обнаружена в крови через 321–358 дней после инфицирования и первичной бактериемии, что свидетельствует о возможной длительной персистенции возбудителя и повторной бак-

териении (Thomas et al., 2012). Не исключено, что аналогичный феномен может быть свойствен и диким длительно живущим млекопитающим.

Разные виды эрлихий экологически связаны с различными видами иксодовых клещей. В США возбудитель МЭЧ передается клещами *A. americanum*, *D. variabilis* (Anderson et al., 1992a, 1993; Everett, 1994), а также *I. pacificus*, причем их контакт с *E. chaffeensis* может быть достаточно интенсивным. Так, в Калифорнии, например, методом ПЦР эрлихии были выявлены минимум у 13% *I. pacificus* и у 20,0% *D. variabilis* (Kramer et al., 1999), а на юге штата Индиана ДНК *E. chaffeensis* определена в разные годы в среднем у 4,6–4,9% клещей *A. americanum* (Steiner et al., 1999). В Европе существование паразитарных систем *E. chaffeensis*, как уже давно известно, для *E. canis* (MacLeod, Gordon, 1933), экологически связано с клещом *I. ricinus*. В Японии *E. chaffeensis* изолировали от клещей *I. ovatus* (Shibata et al., 2000). На юго-востоке Китая его ДНК обнаружена у иксодовых клещей из родов *Haemaphysalis*, *Amblyomma* и *Dermacentor* (Cao et al., 2000), что требует дальнейшего изучения возможной роли этих членистоногих в эпизоотологии МЭЧ.

Основной переносчик возбудителя ГАЧ в США — клещ *I. scapularis* (Pancholi et al., 1995; Fingerle et al., 1998; Hodzic et al., 1998). Его зараженность составляет от 10% до 50% (Magnarelli et al., 1995; Walker, Dumler, 1996). В Калифорнии эти анаплазмы передает *I. pacificus*, причем по результатам исследования методом ПЦР взрослых клещей этого вида ДНК анаплазм в разных местах присутствует у 4–7% особей (Kramer et al., 1999). В Европе основным переносчиком ГАЧ признан *I. ricinus* (Christova and Dumler, 1999; Blanco and Oteo, 2002). Возбудитель или его ДНК обнаружены у взрослых клещей или нимф этого вида, а также у *I. hexagonus* (Stedingk von, 1997; Ogden et al., 2002; Silaghi et al., 2012). На значительной части Евразии один из основных компонентов паразитарных систем МЭЧ и ГАЧ — клещ *I. persulcatus* (Ravyn et al., 1999; Cao et al., 2000a). Циркуляцию *A. phagocytophilum* (не исключено, что и *E. muris*) среди мелких млекопитающих, скорее всего, активно поддерживает клещ *I. trianguliceps* (Колчанова, Брагина, 2011), причем возможно даже в тех европейских, уральских и западносибирских природных очагах, где другие виды иксодовых клещей немногочисленны или вообще отсутствуют (Bown et al., 2003). ДНК возбудителя ГАЧ обнаружена у взрослых клещей родов *Haemaphysalis* и *Dermacentor* (Rar et al., 2011; Yaxue et al., 2011), в частности, на Дальнем Востоке, кроме *I. persulcatus* — у *I. ovatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. longicornis* и *Dermacentor silvarum* (Wuritu et al., 2009; Jiang, 2011).

4.4.2. Горизонтальная и вертикальная передача возбудителей МЭЧ и ГАЧ; зараженность клещей

Взаимоотношения между определенными видами эрлихий, анаплазм клещей и млекопитающих еще недостаточно изучены. Считается, что клещи способны передавать анаплазм трансстадиально, но не передают их трансвариально (Long et al., 2003; Ismail, 2010). Голодные нимфы и имаго *A. americanum*, например, по-

лученные из личинок, нимф и имаго, накормленных на белохвостых оленях, которые были предварительно заражены *E. chaffeensis*, через 3 месяца передавали возбудитель оленям, но не передавали его собакам (Ewing et al., 1995). Те же клещи, а также *A. maculatum* в эксперименте оказались неспособными передать *E. chaffeensis* от одной собаки другой (Ewing et al., 1997).

ДНК *E. muris* в Пермском крае обнаружена у $19\% \pm 3,9\%$ взрослых голодных клещей *I. persulcatus* (Нефедова и др. 2008) в разных областях Урала, Сибири и Дальнего Востока — у 0,3–14,3% (Rar et al., 2005; Пар и др., 2011, 2011a), в разных районах Прибайкалья — у 5,9–33,8% (Козлова и др., 2009; Борисов и др., 2010).

Геномный материал микроорганизмов рода *Anaplasma* или непосредственно *A. phagocytophilum* — на северо-востоке США у 7,6–53% взрослых *I. scapularis* и у 1,5–20,6% нимф этого вида (Telford III et al., 1996), в Швеции — у 0,7–10% клещей *I. ricinus* (Granstrom, 1997; Wallménius et al., 2012), у 1,6% — на юге Германии (Fingerle et al., 1998, 1999), у 7% — в Англии (Guy et al., 1998; Gurtelschmid, 1998), у 24% в Центральной Италии (Cinco, 1998), а также примерно в таком же диапазоне и в других европейских странах (Ogden et al., 1998; Liz et al., 2000). В разных регионах азиатской части России ДНК *A. phagocytophilum* выявлена у 0,7–6,3% таежных клещей (Rar et al., 2005; Пар и др., 2011, 2011a), в Прибайкалье — у 1,4–5,6% (Козлова и др., 2009; Борисов и др., 2010). В Китае, недалеко от границы с Россией — примерно у 4,5% взрослых *I. persulcatus* и *H. concinna*, у 2,5% *H. longicornis*, а также у 1,3% *D. silvarum* (Jiang, 2011). Эти важные данные, как отмечено выше в отношении позвоночных, свидетельствуют лишь о возможном участии клещей в циркуляции возбудителя, но ни в коей мере не доказывают это, поскольку, как известно, методом ПЦР выявляется геномный материал не только живых, но и уже разрушившихся микроорганизмов (раздел 7.4.4). Это означает, что ПЦР-положительных животных неправомерно называть ни зараженными, ни инфицированными, и тем более судить по этим данным о степени их инфицирования, как это делается в последнее время во многих зарубежных и отечественных публикациях (например, Пар и др., 2011a).

4.5. Эпидемиология

Источники, механизм и пути передачи возбудителей МЭЧ и ГАЧ. Для передачи эрлихий и анаплазм от зараженного клеща позвоночному, к которому он прикрепился, может потребоваться от 4 до 24 часов (Needham, 1985; Katavolos et al., 1998; des Vignes et al., 2001). У самцов *I. persulcatus* подтверждение присутствия ДНК *E. muris* отмечено даже чаще, чем у самок (Нефедова и др., 2008). Не исключено, что инфицированные эрлихиями и анаплазмами самцы таежного клеща способны заражать человека при своих кратковременных и менее болезненных «укусах», как это известно для КЭ (раздел 2.5.1); это предположение, разумеется, нуждается

в прямых доказательствах. Описан случай заражения человека ГАЧ при процедуре гемотрансфузии (Jereb et al., 2012).

Причины и интенсивность их контакта с природными очагами. Антитела к *E. turis* имели 1 % жителей мегаполиса Токио (Kawachara et al., 1999). Анаплазмозом чаще болеют мужчины старше 40 лет (70–75 %) (Comer et al., 1999; Afanasieva et al., 2006; Тетерин и др., 2012). В Болгарии у 9 % людей, подвергшихся укусам клеща *I. ricinus*, в нРИФ были обнаружены антитела к ГАЧ (Christova and Dumler, 1999). В южной Германии положительными (с титрами $\geq 1:80$) в этой реакции оказались 14 % сывороток крови работников, связанных с лесом (Fingerle et al., 1997).

Заболееваемость. По данным CDC в США с конца 80-х годов за 19 лет выявлено более 2300 случаев МЭЧ. Как полагают, истинная частота инфицирования людей, скорее всего, была гораздо больше, особенно в наиболее эндемичных регионах, поскольку две трети заболеваний протекает бессимптомно или с минимальной симптоматикой (Olano et al., 2003, 2003a; Dumler et al., 2007; Ismail et al., 2010). Заболевания имеют сезонный характер, связанный, главным образом, с сезонной динамикой численности клещей *A. americanum*. Две трети случаев приходится на май–июль (Walker et al., 2004).

Сезонность заболеваний МЭЧ и ГАЧ в России полностью совпадает с таковой при КЭ и ИКБ (раздел 2.5.4; 3.5.3). В Пермском крае все случаи ГАЧ зарегистрированы с апреля по август, с пиком заболеваемости в конце мая–начале июня, что соответствует периоду максимальной активности клещей *I. persulcatus* (Afanasieva et al., 2006). Сколько-нибудь достоверно судить об общем уровне заболеваемости в настоящее время невозможно из-за отсутствия статистических данных. Некоторое представление о месте этих природноочаговых зоонозов в инфекционной патологии по сравнению с другими заболеваниями, передающимися иксодовыми клещами, дают лишь фрагментарные данные, полученные в разное время при использовании разных методов клинико-лабораторной диагностики.

Так, в весенне-летний период 2007 г. на лечение в инфекционную больницу № 1 г. Перми поступил 251 пациент после присасывания клещей *I. persulcatus*. При двух-трехкратном исследовании проб крови в первые 50–60 дней от начала заболевания ДНК *E. turis* обнаружена у 39 (15,5 %) пациентов (Тетерин и др., 2010). В весенне-летний период 1999–2000 гг. в ту же инфекционную больницу г. Перми госпитализировано 1952 пациента. При двукратном серологическом обследовании в сыворотках крови 86 пациентов (около 4 %) выявлены высокие титры (1:80–1:1200) специфических антител к возбудителю МЭЧ, позволившие диагностировать моноцитарный эрлихиоз (Vorobyeva et al., 2002).

Заболевания ГАЧ в США наблюдаются с апреля по декабрь с пиком числа случаев в июне и июле. При массовом централизованном тестировании в нРИФ сывороток крови, поступивших в CDC от больных с подозрением на заболевание риккетсиозной или эрлихиозной этиологии из различных штатов в 1987–1988 гг., диагноз ГАЧ был серологически подтвержден в 142 случаях — 8,9 % обследованных пациентов (Comer et al., 1999). Между 1994 и 2005 гг. по официальным дан-

ным CDC было более 2900 случаев ГАЧ. Самый высокий ежегодный уровень заболеваемости (от 14–16 до 58 случаев на 100 000 человек) зарегистрирован в штатах Висконсин и Коннектикут (Ismail et al., 2010).

Данных о ситуации в России пока немного. В весенне-летний период 2003 г. на лечение в инфекционную больницу г. Перми поступили 476 пациентов после присасывания клещей *I. persulcatus*. Выявлено 106 случаев ГАЧ (29 — моноинфекция и 77 — микст-инфекции), что составило 16,4% от всех заболеваний, которые возникли после присасывания клещей (Afanasieva et al., 2006). В аналогичный период 2010 г. в то же клиническое учреждение были госпитализированы 332 пациента, которые заболели после присасывания клещей, и были подвергнуты комплексному клинико-лабораторному обследованию. Диагноз ГАЧ во всех случаях выставляли на основании клинико-эпидемиологических данных, подтвержденных результатами серологического тестирования (критерии: наличие в сыворотке иммуноглобулинов М или G с коэффициентом серопозитивности не менее 1,1; четырехкратное нарастание титра антител в динамике заболевания; сероконверсия IgM на IgG) и (или) положительного ПЦР исследования сухих пятен крови. ГАЧ в виде моно- и микст-инфекции диагностирован в итоге у 79 (23,8%) обследованных пациентов, что близко к доле заболеваний КЭ (Тетерин и др., 2012).

Поскольку Пермский край всегда занимал одно из первых мест по числу заболеваний, связанных с иксодовыми клещами, приведенные данные позволяют предполагать, что ежегодное общее число случаев ГАЧ в России может быть не меньше, чем КЭ, а вместе с МЭЧ — превышать уровень заболеваемости КЭ (рис. 4.3).

4.6. Клинические проявления МЭЧ и ГАЧ

Эрлихии и анаплазмы попадают в организм человека со слюной зараженного клеща. Инкубационный период продолжается от 1 до 21 дней, а острый период

клинически выраженного заболевания — 2–3 недели, но иногда затягивается до 6 недель. Его патогенез определяется тем, что возбудители — внутриклеточные паразиты, размножающиеся в лейкоцитах. При завершении внутриклеточного цикла возбудители МЭЧ и ГАЧ покидают лейкоцит, разрушая его (раздел 4.2.1). Такие циклы неоднократно повторяются. Размножение возбудителей приводит к ослаблению имму-

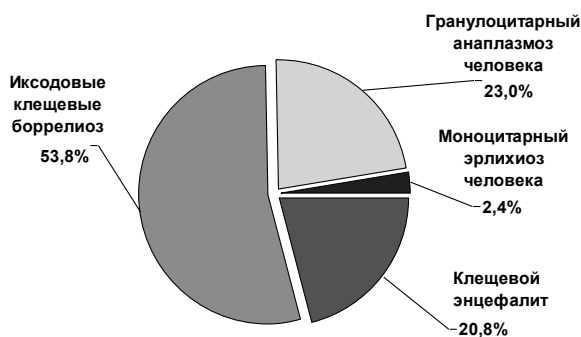


Рис. 4.3. Этиологическая структура заболеваний, передающихся клещами, у пациентов Пермской краевой инфекционной больницы.

нитета и, как следствие, способствует развитию оппортунистических грибковых и вирусных инфекций (Walker, Dumler, 1997), а также воспалительных процессов различного характера, включая хронические, в разных внутренних органах (Dawson, Marty, 1997). Весьма вероятно, что возбудитель ГАЧ передается перинатально (Elston, 1998). МЭЧ может сопровождаться грануломами костного мозга и печени, а также мультиорганными периваскулярными лимфогистоцитарными инфильтратами. *E. chaffeensis* способна проникать в цереброспинальную жидкость, что вызывает значительный плеоцитоз. При этом морулы эрлихий обнаруживаются в мононуклеарных клетках (Dunn et al., 1992).

Клинические проявления имеют широкий спектр: от инаппарантной (бессимптомной или субклинической) формы (Yevich et al., 1995; Standaert et al., 1997), которая в эндемичных районах США выявлена у 20 % детей (Marshall et al., 2002), до течения, угрожающего жизни, и летального исхода (Paddock et al., 1997). Смертность составляет 3–5 % при МЭЧ и 7–10 % при ГАЧ, причем особенно часто фатальный исход наблюдается среди пациентов с грибковыми и вирусными оппортунистическими инфекциями. Прогноз заболевания у детей обычно благоприятный (Barton et al., 1992).

Клинические симптомы острого периода МЭЧ и ГАЧ обычно включают различные проявления общеинфекционного синдрома: лихорадку, недомогание, головную боль и миалгию, ооченение, потливость, тошноту и (или) рвоту (Bakken et al., 1994). Эти и другие клинические проявления эрлихиозов (табл. 4.1) неспецифичны. Цифры, приведенные в этой таблице, по мере накопления данных уточняются (Dumler et al., 2005), но в целом не меняют сложившихся представлений. В США отмечают сходство клинических проявлений МЭЧ и ГАЧ с таковыми при пятнистой лихорадке Скалистых гор. Для острого периода заболеваний характерна тромбоцитопения, лейкопения и повышенный уровень печеночной трансаминазы, иногда анемия. Эти изменения со стороны крови, обычно происходящие как у взрослых пациентов, так и у детей (Wong, Thomas, 1998), указывают на высокую вероятность эрлихиозной или анаплазмозной этиологии заболевания, но не могут быть достаточным основанием для установки окончательного диагноза.

Таблица 4.1. Клинические проявления МЭЧ и ГАЧ в США (по Fishbin et al., 1994; Damler, Bakken, 1995; Sulkowski and Dumler, 1998; Jacobs and Schutze, 1997).

Клинические проявления, симптомы или лабораторные признаки	Процент пациентов с данным проявлением при		
	МЭЧ		ГАЧ
	в целом	у детей	в целом
Лихорадка	97	100	100
Недомогание	84	?	100
Головная боль	81	63	100
Миалгия	68	63	100

Клинические проявления, симптомы или лабораторные признаки	Процент пациентов с данным проявлением при		
	МЭЧ		ГЧ
	в целом	у детей	в целом
Окоченение	61	?	100
Диарез	53	?	91
Анорексия	66	?	?
Фарингит	26	?	?
Тошнота	48	57	50
Рвота	37	?	50
Артралгия	41	?	25
Кожная сыпь	36	66	8
Психические нарушения	20	?	42
Кашель	26	?	25
Боли в брюшной области	22	?	?
Диарея	25	?	?
Гепатоспленомегалия	?	41	?
Сердечный шум	?	33	?
Лимфаденопатия	25	?	?
Лимфопения	?	80	?
Лейкопения	60–74	69	50
Тромбоцитопения	72	82	92
Анемия	50	38	50
Гипонатриемия	?	65	?
Повышенный уровень аланинаминотрансферазы	80	?	?
Повышенный уровень аспартатаминотрансферазы	86–88	89	91
Повышенный уровень сывороточного креатинина	24	?	70

В России по данным Н. Н. Воробьевой с сотрудниками (см. Коренберг и др., 2007) инкубационный период МЭЧ продолжается от 1 до 29 дней (в среднем 13 дней). Заболевание начинается остро с повышения температуры до 38–40 °С, сопровождающейся ознобом, и характеризуется развитием выраженного общеинфекционного синдрома при отсутствии патогномичных признаков. Длительность лихорадочной реакции составляет 1–6 дней, реже до 10–12 дней. Общеинфекционный синдром проявляется слабостью, недомоганием, головной болью. У 2/3 больных наблюдаются катаральные явления со стороны верхних дыхательных путей (першение в горле, заложенность носа, непродуктивный кашель). Характерны гиперемия лица, инъекция сосудов склер и конъюнктив, гиперемия слизистых оболочек ротоглотки. Редко (3%) на туловище, голенях, бедрах появляется пятнисто-папулезная сыпь. У 1/3 пациентов отмечается увеличение подчелюстных лимфоузлов (от 0,7 до 1,5 см в диаметре).

У трети пациентов наблюдаются общемозговые симптомы (головные боли, головокружения, тошнота, рвоты, парестезии, гиперестезии, гиперакузии). Недостаточность лицевого нерва по центральному типу обычно бывает примерно у четверти больных. В 8–10 % случаев развивается серозный менингит (в ликворе — лимфоцитарный плеоцитоз от 15 до 228 клеток в 1 мкл). Поражение опорно-двигательного аппарата проявляется миалгиями, преимущественно нижних конечностей и артралгиями, иногда болями в области позвоночника. Вовлечение в патологический процесс сердечно-сосудистой системы (сердцебиение, лабильность АД, приглушение тонов сердца) наблюдается у 1/3 пациентов. У половины больных развивается острый безжелтушный гепатит, который проявляется увеличением размеров печени, которая на 1–2 см выступает за край правой реберной дуги, повышением активности АлАТ и АсАТ (0,86–6,5 мкмоль/л). Увеличение показателей креатинина и мочевины выявляется в 1/5 случаев, причем острая почечная недостаточность не развивается. В общем анализе крови при МЭЧ определяются тромбоцитопения, лейкопения с палочкоядерным сдвигом влево, лимфо- и моноцитопения, увеличение СОЭ, редко — анемия. У трети пациентов наблюдается двухволновое течение заболевания. Вторая волна имеет более тяжелое течение, которое проявляется высокой и длительной лихорадкой, выраженными симптомами интоксикации. Отсутствие патогномоничных симптомов в клинической картине МЭЧ существенно затрудняет распознавание инфекции без ее серологической верификации (Григорян и др., 2000; Воробьева и др., 2000, 2001; Коренберг и др., 2007).

Клинические проявления ГАЧ сходны с таковыми при МЭЧ. Инкубационный период варьирует от 3 до 23 дней (в среднем 13 дней). Характерно острое начало заболевания с подъемом температуры до высоких цифр. Лихорадочный период длится от 2 до 10 дней. У 5 % больных температурная реакция имеет двухволновый характер с возникновением второй волны на 5–8 дни апиреksии. Общепатогномоничный синдром проявляется слабостью, недомоганием, головной болью разлитого характера. Со стороны сердечно-сосудистой системы у 70 % пациентов отмечаются сердцебиение, понижение артериального давления, относительная брадикардия. Эти изменения непродолжительны и купируются самостоятельно. У 85 % больных развивается острый безжелтушный гепатит с повышением активности АлАТ в 2–5 раз на 10–12 день болезни. В отличие от США и Западной Европы, где у пациентов в остром периоде заболевания редко или вообще не наблюдается нефропатия, в Пермском крае у всех пациентов в период лихорадки отмечается поражение почек: гипоизостенурия, протеинурия, эритроцитурия. На фоне таких нарушений наблюдается увеличение показателей азотистого обмена крови (мочевины — до 9,3 ммоль/л, креатинина — до 0,136 ммоль/л). Редко развиваются осложнения в виде инфекционно-токсического шока и острой почечной недостаточности. Поражение нервной системы отмечается у 25 % пациентов и проявляется общемозговой симптоматикой в виде головокружения, тошноты. Иногда в разгар заболевания определяются симптомы менингизма.

В гемограмме — лейкопения, палочкоядерный сдвиг влево на фоне снижения количества сегментоядерных нейтрофилов, лимфопения в первые дни заболевания, повышение СОЭ. При своевременном лечении клиническая симптоматика обычно быстро купируется, и заболевание отличается доброкачественным течением. Редкие летальные исходы связаны с поздним началом лечения и развитием оппортунистических инфекций. В Пермском крае клиническая картина ГАЧ отличается от таковой в США и Европе более легким течением (97 % случаев), поражением почек (100 %) и развитием второй волны (у 5 % заболевших). Как и при МЭЧ, отсутствие патогномичных признаков анаплазмоза затрудняет его распознавание без серологической верификации (Воробьева и др., 2000; Афанасьева и др., 2006; Коренберг и др., 2007; Тетерин и др., 2012).

В России МЭЧ и ГАЧ предстоит дифференцировать с мононуклеозом, энтеровирусными и цитомегаловирусной инфекциями, респираторными заболеваниями, бактериальными менингоэнцефалитами, эндокардитом, вирусными гепатитами, тифоидными лихорадками, лейкемией, ИКБ, лептоспирозом, туляремией, а также с другими заболеваниями риккетсиозной этиологии.

4.7. Иммуниет и антигенемия

Иммунодоминантные белки, выявляемые иммуноблотом при МЭЧ, имеют 120, 29, 28 и 22 kDa (Chen, 1994a). Показано, что белок р28 имеет несколько генетически контролируемых вариантов, что, по всей вероятности, способствует уклонению *E. chaffeensis* от иммунного ответа хозяина (Yu et al., 1999, 2000). Сероконверсия происходит в течение второй недели заболевания, а антитела, выявляемые у переболевших в нРИФ, по некоторым данным держатся в течение 2 лет (Goodman et al., 1996).

A. phagocytophilum имеет несколько иммунореактивных белков, главные из которых расположены в области 42 и 45 kDa. Другие существенные иммуногенные белки находятся в области 20, 21, 25, 28, 30, 60 и 100 kDa (Dumler, 1995a; Murphy et al., 1998a; Ravyn et al., 1998). Протективный иммунитет определяется поверхностными иммунодоминантными белками, во многом белком наружной мембраны 44 kDa, кодирующимся геном *p44*, экспрессия которого регулируется несколькими активными сайтами. Этот механизм определяет разнообразие белков 44 kDa. Белок Р44 играет важную роль в адгезии *A. phagocytophilum* на поверхности нейтрофилов, а также в антигенной изменчивости этого возбудителя и его уклонении от иммунного ответа. Его разнообразные варианты способствуют адаптации микроорганизма к внутренней среде млекопитающих и клещей, что имеет важное значение при переходе возбудителя от клещей к его резервуарным хозяевам (Zhi et al., 1999; Caspersen et al., 2002; Ijdo et al., 2003; Rejmanek et al., 2012).

В иммуноблоттинге нарастание уровня специфических IgM и IgG антител, реагирующих с антигенами возбудителя ГАЧ, наблюдалось в течение 6 месяцев

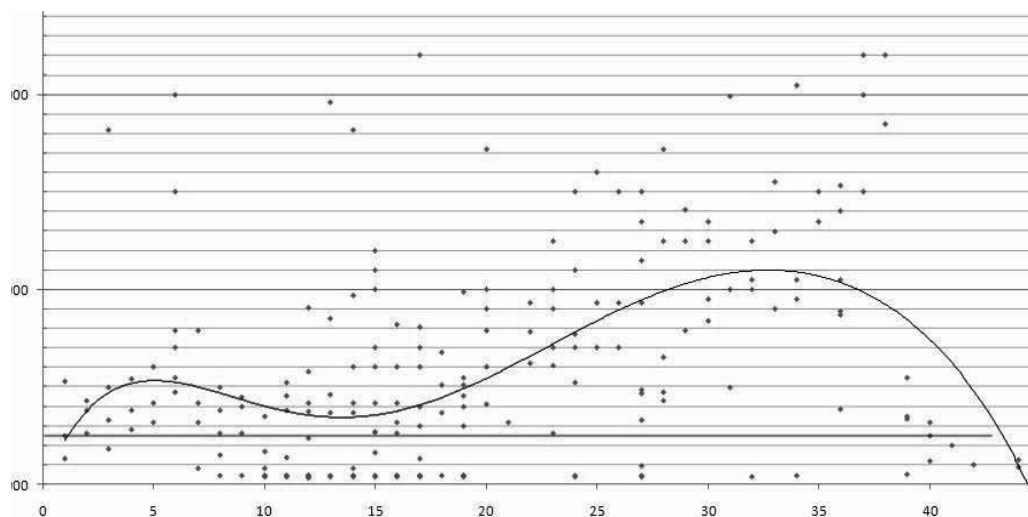


Рис. 4.4. Конкретные показатели оптической плотности (точки), полученные при исследовании в ИФА на наличие IgG в сыворотках крови 180 больных ГАЧ в разные сроки от начала заболевания, и их аппроксимированное выражение (график). Толстая горизонтальная линия — пороговый уровень, выше которого в соответствии с инструкциями производителя тест-систем результат следует считать положительным. По оси ординат — значения оптической плотности; по оси абсцисс — дни от начала заболевания (Тетерин и др., 2012а).

(Johnson et al., 1996). Постинфекционный иммунитет связывают с клеточными механизмами защиты. В остром периоде заболевания показатели, превышающие в ИФА критический уровень оптической плотности для иммуноглобулинов М, чаще появляются, начиная с 9-го дня, и достигают максимума на 13–24-й день от начала заболевания. При этом уже на первой неделе болезни положительными оказываются около четверти проб (Magnarelli et al., 2001; Тетерин и др., 2012). Значения оптической плотности для иммуноглобулинов класса G, превышающие пороговый уровень, появляются с первых дней развития инфекции, причем на первой неделе IgG уже имеют около 75–100% пациентов (рис. 4.4). Средние значения оптической плотности достигают максимума на 4–5 неделях болезни.

Между *A. phagocytophilum*, близкими ей видами анаплазм и почти столь же широко распространенной *E. canis* (а также близкими ей видами эрлихий) хорошо выражены перекрестные серологические реакции (Waner et al., 1998). Приобретенный клеточный и гуморальный иммунитет против *E. chaffeensis*, как считают некоторые исследователи (Bakken, Dumler, 2004) в какой-то мере опосредованно защищает и от *A. phagocytophilum*. Высокие титры гуморальных антител к возбудителю ГАЧ сохраняются до 3 лет, причем считается, что это предохраняет людей от повторного заражения. Однако пока не ясно, является ли длительное сохранение антител результатом хронизации инфекционного процесса или реинфицирования (Ismail et al., 2010). С большой осторожностью нужно трактовать

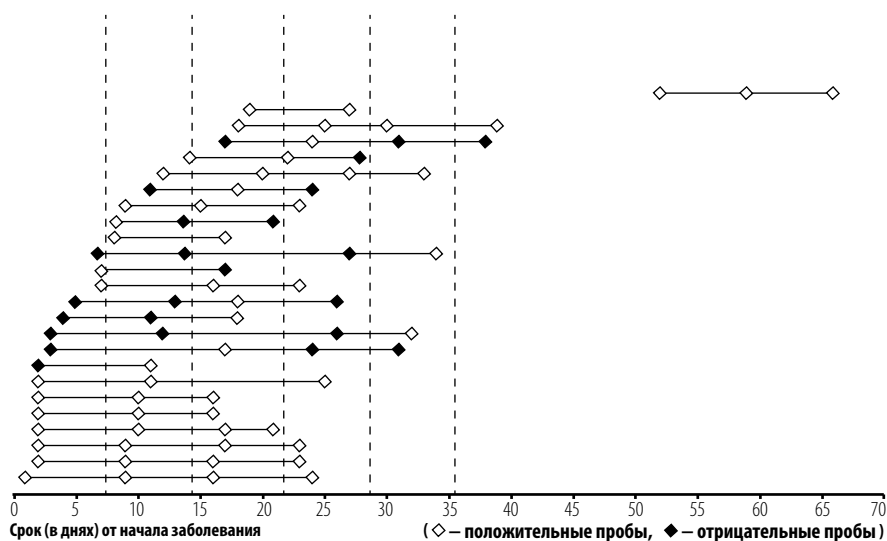


Рис. 4.5. Результаты исследования всех проб крови, взятых в разные сроки (в днях от начала заболевания) у каждого из 25 ПЦР-положительных пациентов с ГАЧ. (Тетерин и др., 2012а).

и положительные результаты, полученные методом ПЦР при ретроспективном исследовании сывороток крови давно переболевших людей (Борисов и др., 2010); пока нет должных оснований, чтобы однозначно считать их подтверждением перенесенного ГАЧ.

Генетический материал эрлихий присутствовал в крови пациентов до 58-го дня от начала заболеваний, причем наиболее часто (в $57,1 \pm 5,9\%$ проб, полученных в этот период) на первой–третьей неделе (Тетерин и др., 2010). ДНК *A. phagocytophilum* определяется методом ПЦР с 1-го по 66-й день от начала заболевания, причем на протяжении всего периода болезни и в более поздние сроки частота ее обнаружения примерно одинакова (около 60% проб). У значительной части ПЦР-положительных пациентов ДНК анаплазм при повторном обследовании обнаруживается во всех пробах крови, включая взятые на 4–5-й неделе болезни (рис. 4.5). Это свидетельствует о длительном присутствии генетического материала или самого возбудителя ГАЧ в крови, даже несмотря на то, что половина пациентов, у которых все пробы были положительными, с лечебной целью не менее 10 дней получала доксициклин (Тетерин и др., 2010).

4.8. Лечение

Терапия при МЭЧ и ГЭЧ идентична: тетрациклин по 25 мг/кг в день четырьмя равными дозами или доксициклин (юнидокс) — 100 мг каждые 12 часов взрослым и 3 мг/кг в день детям (но не более 200 мг в день) двумя равными дозами. Лечение должно продолжаться не менее 7–10 дней (Dumler and Bakken, 1995;

Walker, Dumler, 1995). При непереносимости препаратов тетрациклинового ряда и беременности применяют рифампицин по 0,6–0,9 г в сутки, курсом 7–10 дней. Терапевтический эффект при использовании этих препаратов обычно наступает в течение 24 часов, о чем свидетельствуют исчезновение лихорадки и улучшение самочувствия пациента. Отсутствие эффекта от антибиотикотерапии препаратами тетрациклиновой группы ставит под сомнение диагноз МЭЧ и ГЭЧ. Кроме этиотропной терапии, по рекомендации Н.Н. Воробьевой с сотрудниками, необходимо патогенетическое лечение, направленное на дезинтоксикацию, коррекцию функциональных нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы и печени, а также витамины.

4.9. Литература

- Алешковская Е. С., Благов Н. А., Дружинина Т. А., Шалено Е. // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2008. № 2. С. 6.
- Афанасьева М. В., Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И. и др. // Инфекционные болезни. 2006. Т. 4, № 2. С. 24.
- Борисов В. А., Козлова И. В., Аитов К. А. // Ж. инфекц. патол. 2010. Т. 17, № 3. С. 35.
- Воробьева Н. Н., Григорян Е. В., Коренберг Э. И. // VI Российско-итальянская научная конференция. СПб., 2000. С. 55.
- Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И., Григорян Е. В. // Клещевые и паразитарные болезни. СПб., 2001. С. 17.
- Григорян Е. В., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2000. № 6. С. 20.
- Гришечкин А. Е., Морозова О. В., Щучинова Л. Д. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2011. № 2. С. 12.
- Ермак Т. Н. // Инфекционные болезни: национальное руководство. М., 2009. С. 576.
- Иголкина Я. П., Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н. и др. // Бюлл. Сиб. мед. 2006; Приложение 1. С. 121.
- Козлова И. В., Верховина М. М., Дорощенко Е. К. и др. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 129.
- Колчанова Л. П., Брагина Е. А. // Паразитология. 2011. Т. 45, № 4. С. 273.
- Коренберг Э. И. // VII Акарологическое совещание. Тезисы докладов. СПб., 1999. С. 33.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1999а. № 4. С. 10.
- Коренберг Э. И. // РЭТ инфо. 2000. № 1. С. 19.
- Коренберг Э. И. // Дезинфекционное дело. 2000а. № 2. С. 10.
- Коренберг Э. И. // Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2002. С. 341.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. и др. // Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Методические рекомендации для врачей. Пермь, 2007, 67 с.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Вест. РАМН. 2008. № 7. С. 47.
- Оберт А. С., Рудаков Н. В., Рудакова С. А. и др. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2007. № 4. С. 34.
- Пеньевская Н. А., Рудакова С. А., Рудаков Н. В. и др. // Перм. мед. журн. 2009. Т. 26, № 5. С. 32.
- Рар В. А., Епихина Т. И., Ливанова Н. Н. и др. // Мол. ген., микробиол., вирусол. 2011. № 2. С. 17.
- Рар В. А., Ливанова Н. Н., Пуховская Н. М. и др. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. 2011а. Новосибирск, СО РАН. С. 309.
- Рудаков Н. В. // Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Бином. М., 2010. С. 940.
- Рудаков Н. В., Шпынов С. Н., Самойленко И. Е. и др. // Бюлл. Сиб. мед. 2006; Приложение 1 С. 111.
- Рудаков Н. В., Шпынов С. Н., Ястребов В. К. и др. // Эпидемиол. и вакцин. 2012. № 5. С. 29.
- Сидельников Ю. Н., Медяников О. Ю., Иванов Л. И., Ждановская Н. И. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2002. № 3. С. 28.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // II Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням. М., 2010. С. 316.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Инфекц. болезни. 2012. Т. 10, № 1. С. 21.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Журнал инфектологии. 2012а. Т. 4, № 2. С. 33.
- Фризен В. И., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2004. 2 (15). С. 27.
- Шпынов С. Н., Рудаков Н. В., Ястребов В. К. и др. // Мед. паразитол. 2004. № 2. С. 10.
- Afanasyeva M. V., Vorobyeva N. N., Korenberg E. I., Frizen V. I. // Intern. J. Med. Microbiol. 2006. Vol. 296, S1. P. 167.

- Alekseev A., Dubinina H., Pol I. V.D., Schouls L. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39, No. 6. P. 2237.
- Alekseev A., Dubinina H., Schouls L. // Bull. Scand. Soc. Parasitol. 1998. Vol. 8. P. 88.
- Anderson B. E., Dawson J. E., Jones D. C., and Wilson K. H. // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29. P. 2838.
- Anderson B. E., Green C. E., Johns D., and Dawson J. E. // Int. J. Syst. Bact. 1992. Vol. 42. P. 299.
- Anderson B. E., Sims K. D., Olson J. G. et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1993. Vol. 49. P. 239.
- Anderson B. E., Sumner J. W., Dawson J. E. et al. // J. Clin. Microbiol. 1992a. Vol. 30. P. 775.
- Bakken J. S., Dumler J. S. // Clin. Infect. Dis. 2000. Vol. 31. P. 554.
- Bakken J. S., Dumler J. S. // Infect. Med. 2004. Vol. 21. P. 433.
- Bakken J. S., Dumler J. S., Chen S-M. et al. // JAMA. 1994. Vol. 272. P. 212.
- Barton L. L., Rathore M. H., Dawson J. E. // J. Pediatr. 1992. Vol. 120. P. 998.
- Belongia E. A., Reed K. D., Mitchel P. D. et al. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 1465.
- Blanco J. R. and Oteo J. A. // Microbiol. & Infection. 2002. Vol. 8 (12). P. 763.
- Bown K. J., Begon M., Bennett M. et al. // EID. 2003. Vol. 9, No. 1. P. 63.
- Breitschwerdt E. B., Hegarty B. C. and Hancock S. I. // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36. P. 2645.
- Cao W., Gao Y. M., Zhang P. H. et al. // J. Clin. Microbiol. 2000. Vol. 38, No. 7. P.2778.
- Cao W., Zhao Q-M., Zhang P. H. et al. // J. Clin. Microbiol. 2000a. Vol. 38, No. 11. P. 4208.
- Carter S. F., Ravyn M. D., Xu Y., Johnson R. C. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39, No. 9. P. 3398.
- Caspersen K., Park J. H., Patil S. et al. // Infect. Immun. 2002 Vol. 70. P. 1230.
- Castellaw A. H., Cheney E. F., Varela-Stokes A.S. // VBZD. 2011. Vol. 11, No. 4. P. 439.
- Castro M. B., Nicholson W. L., Kramer W. L. Childs J. I. // Am. J. Trop. Med. Hig. 2001. Vol. 65. P. 261.
- Chen S-M., Dumler J. S., Bakken J. S., Walker D. H. // J. Clin. Microbiol. 1994. Vol. 32. P. 589.
- Chen S-M., Dumler J. S., Feng H-M., Walker D. H. // Am. J. Trop. Med. Hig. 1994a. Vol. 50. P.52.
- Cheng C. M., Paddock C. D., and Ganta R. R. // Infection & Immunity. 2003. Vol. 71 (1). P.187.
- Christova I. S. and Dumler J. S. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999. Vol. 60 (1). P. 58.
- Cinco M., Padovan D., Murgia R. et al. // Win. Klin. Woch. 1998. Vol. 110. P. 898.
- Clark K. L. // J. Vector Ecol. 2012. Vol. 37, 7. P. 262.
- Comer J. A., Nicholson W. L., Olson J. G. and Childs J. E. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 3. P. 558.
- Dawson J. E., Anderson B. E., Fishbein D. B. et al. // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29. P. 2741.
- Dawson J. E., Biggie K. L., Warner C. K. et al. // AJVR. 1996. Vol. 57. P. 1175.
- Dawson J. E., Marty A. M. // In: Pathology of Emerging Infections. Washington. 1997. P. 49.
- Dawson J. R., Stallknecht D. E., Howerth E. W. et al. // J. Clin. Microbiol. 1994. Vol. 32. P. 2725.
- Dumler J. S., Asanovich K. M., Bakken J. S. // J. Clin. Microbiol. 1995a. Vol. 33. P. 1098.
- Dumler J.S. and Bakken J. S. // Clin. Infect. Dis. 1995. Vol. 20. P. 1102.
- Dumler J. S., Barat N. C., Barat C. E. et al. // Clin. Infect. Dis. 2007. Vol. 45. P. 199.
- Dumler J. S., Barbet A. F., Bekker C. P. et al. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. Vol. 51. P.2145.
- Dumler J. S., Choi K-S., Garcia-Garcia J.C. et al. // EID. 2005. Vol. 11, No. 12. P. 1828.
- Dumler J.S. and Walker D. H. // Lancet Inf. Dis. 2001. April. P. 21.
- Dunn B. E., Monson T. P., Dumler J. S. // J. Clin. Microbiol. 1992. Vol. 30. P. 2207.
- Fingerle V., Goodman J. L., Jonson R. C. et al. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35, No. 12. P. 3244.
- Elston D. M. // N. Engl. J. Med. 1998. Vol. 339. P. 1941.
- Everett E. D., Ewans K. A., Henry B. and McDonald G. // Ann. Intern. Med. 1994. Vol. 120. P. 30.
- Ewing S. A., Dawson J. E., Kocan A. A. et al. // J. Med. Entomol. 1995. Vol. 32. P. 368.
- Ewing S. A., Dawson J. E., Mathew J. S. et al. // Vet. Parasitol. 1997. Vol. 70. P. 183.
- Ewing S. A., Dawson J. E., Panciera R. J. et al. // J. Med. Entomol. 1997. Vol. 34, No. 6. P. 710.
- Fingerle V., Goodman J. L., Johnson R. C. et al. // Symp. Pathogenesis and Management of Tick-Borne Diseases. Abstracts. Vienna, 1998. P. 19.
- Fingerle V., Goodman J. L., Johnson R. C. et al. // Wien. Klin. Wochschr. 1999. Vol. 111 (22-23). P. 1000.
- Fishbein D. B., Dawson J. E. and Robinson L. E. // Ann. Intern. Med. 1994. Vol. 120. P. 736.
- Fishbein D. B., Sawyer L. A., Holland C. J. et al. // JAMA. 1987. Vol. 257. P. 3100.
- Goodman J. L., Nelson C., Vitale B. et al. // N. Engl. J. Med. 1996. Vol. 334. P.209.

- Granstrom M. // Clin. Microbiol. Infect. 1997. Vol. 3. P. 156.
- Grzezczuk A., Ziarko S., Prokopowicz D. and Radziwon P.M. // Med. Weteryn. 2004. Vol. 60 (6). P. 600.
- Gurtelschmid M., von Stedingk L. V., Dotevall L. et al. // Intern. Conf. on Emerging. Infect.Diseases. Abstracts book. Atlanta. 1998. P. 134.
- Guy E., Tasker S. and Joyson D.H.M. // Epidemiol. Infect. 1998. Vol. 121. P. 681.
- Hodzie E., Fish D., Maretzki C.M. et al. // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36. P. 3574.
- Ijdo J. W., Wu C., Telford III S.R. et al. // Infect. Immun. 2002. Vol. 70. P. 5295.
- Inocuma H., Beppu T., Okuda M. et al. // J. Clin. Microbiol. 2004. Vol. 42. P. 1353.
- Ismail N., Bloch K. C., McBride J.W. et al. // Clin. Lab. Med. 2010. Vol. 30. P. 261.
- Jacobs R. F. and Schutze G. E. // J. Pediatr. 1997. Vol. 131. P. 184.
- Jahfari S., Fonville M., Hengeveld P. et al. // Parasites & Vectors. 2012. Vol. 5. P. 74.
- Jereb M., Pecaver B., Tomazic J. et al. // EID. 2012. Vol. 18, No. 8. P. 1354.
- Jiang J-F., Jiang B-G., Hu J-H. et al. // EID. 2011. Vol. 17, No. 5. P. 933.
- Johnson R. C., Goodman J., Engstrom S. M. et al. // Междунаrodn. научн. конф. «Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами». Тез докл. Иркутск, 1996. С. 71.
- Kang J., Ko S., Kim Y-J. et al. // VBZD. 2011. Vol. 11, No. 7. P. 929.
- Katavolos P., Armstrong P.M., Dawson J.E. et al. // J. Infect. Dis. 1998. Vol. 177. P. 1422.
- Kawachara M., Ito T., Suto C. et al. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 4. P. 1123.
- Kawachara M., Rikihisa Y., Isogai E. et al. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2004. Vol. 54 (5). P. 1837.
- Kawachara M., Suto C., Rikihisa Y. et al. // J. Clin. Microbiol. 1993. Vol. 31. P. 89.
- Kawachara M., Suto C., Rikihisa Y. et al. // ASM 98th General Meeting. Atlanta. 1998. P. 216.
- Keesing F., Hersh M.H., Tibbettset M. et al. // EID. 2012. Vol. 18, No. 12. P. 2013.
- Korenberg E., Nefedova V., Kovalevskii Yu., Gorelova N. // Proceedings 12th International Congress of Acarology. Amsterdam. 2006. P. 99.
- Kramer V.L., Randolph M.P., Hui L. T. et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1999. Vol. 60. P. 62.
- Ladbury G.A.F., Stuen S., Thomas R. et al. // J. Clin. Microbiol. 2008. Vol. 46, No. 5. P. 1686.
- Levin M., Fish D. // Infect. Immun. 2000. Vol. 68. P.1514.
- Levin M.L., Nicholson W.L., Massung R. F. et al. // VBZD. 2002. Vol. 2, No. 3. P. 125.
- Liz J.S., Anderes L., Sumner J. W. et al. // J. Clin. Microbiol. 2000. Vol. 38. P.1002.
- Lockhart J.M., Davidson W.R., Stallknecht D.E. and Dawson J.E. // J. Med. Entomol. 1996. Vol. 33. P. 153.
- Long S. W., Zhang X-F., Qi H. et al. // Infect. and Immun. 2002. Vol. 70, No. 4. P. 1824.
- Long S. W., Zhang X., Zhang J. et al. // J. Med. Entomol. 2003. Vol. 40 (6). P. 1000.
- MacLeod J.R., Gordon W.S. // Parasitology. 1933. Vol. 25. P. 273.
- Maeda K., Markowitz N., Hawley R. C. et al. // N. Engl. J. Med. 1987. Vol. 316. P. 853.
- Magnarelli L., Ijdo J., Wu C. et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2001. Vol. 20. P. 482.
- Magnarelli L., Stafford K.S.III., Ijdo J. et al. // J. Wild. Dis. 1999. Vol. 35, No. 2. P. 259.
- Magnarelli L., Stafford K.S.III., Mather T.N. et al. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33. P. 2710.
- Manian F.A., Weidner J. Costello J. et al. // Missouri Medicine. 1989. Vol. 86. P. 691.
- Marshall G.S., Jacobs R. F., Schutze G. E. // Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 2002. Vol. 156. P. 166.
- Massung R. F., Courtney J. W. Hiratzka S. L. et al. // EID. 2005. Vol. 11, 10. P. 1604.
- Matsumoto K., Jonkour G., Lamanda P. et al. // Clin. Microbiol. Infect. 2007. Vol. 13. P. 338.
- McDade J.E. // J. Infect. Dis. 1990. Vol. 161. P.609.
- Michalik J., Stańczak J., Clieniuch S. et al. // EID. 2012. Vol. 18, No. 6. P. 998.
- Morais J.D., Dawson J.E. Greene C. et al. // Lancet. 1991. Vol. 338. P. 633.
- Murphy G.L., Ewing S.A., Whitworth L. C. et al. // Vet. Parasitol. 1998. Vol. 79. P. 325.
- Murphy C.I., Storey J.R., Recchia J. et al. // Infect. Immun. 1998a. Vol. 66. P. 3711.
- Needham G. R. // Pediatrics. 1985. Vol. 75. P. 997.
- Nicholson W.L., Muir S., Sumner J. W. and Childs J.E. // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36. P.695.
- Ogden N. H., Bown K., Horrocks B. K. et al. // Med. Vet. Entomol. 1998. Vol. 12. P. 423.
- Ogden N. H., Kasey A. N.J., French N. P. et al. // Parasitology. 2002. Vol. 124. P. 127.

- Ohashi N, Zhi N, Zhang Y. et al. // *Infect. Immun.* 1998. Vol. 66. P. 132.
- Olano J. P., Hogrefe W., Seaton B. et al. // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003. Vol. 10. P. 89.
- Olano J. P., Masters E., Hogrefe W. et al. // *EID.* 2003a. Vol. 9. P. 1579.
- Paddock C. D., Sumner J. W. Shore G. M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 2496.
- Pancholi P., Kolbert C. P., Mitchell P. D. et al. // *J. Infect. Dis.* 1995. Vol. 172. P. 1007.
- Petrovec M., Bidovec A., Sumner J. et al. // *Wien Klin. Wochschr.* 2002. Vol. 114/13–14. P. 641.
- Petrovec M., Furlan S. L., Zupanc S. L. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 1556.
- Popov V. L., Chen S. M., Feng H. M. et al. // *J. Med. Microbiol.* 1995. Vol. 43. P. 411.
- Popov V. L., Han V. C., Chen S. M. et al. // *J. Med. Microbiol.* 1998. Vol. 47. P. 235.
- Popov V. L., Korenberg E. I., Nefedova V. V. et al. // *VBZ.* 2007. Vol. 7, No. 4. P. 699.
- Parola P., Cornet J. P., Sanogo Y. O. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 1600.
- Parola P., Inocuma H., Camicas J. L. et al., // *EID.* 2001. Vol. 7. P. 1014.
- Portillo A., Santos A. S., Santibáñez S. et al. // *Ann. NY Acad. Sci.* 2005. Vol. 1063. P. 333.
- Pusterla N., Deplases P., Braun U. and Lutz H. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37, No. 4. P. 1168.
- Rar V. A. and Golovljova I. // *Infect. Gen. Evol.* 2011. Vol. 11. No. 8. P. 1842.
- Rar V. A., Epichina T. I., Livanova N. N. et al. // *VBZD.* 2011. Vol. 11, No. 8. P. 1013.
- Rar V. A., Fomenko N. V., Dobrotvorsky A. K. et al. // *EID.* 2005. Vol. 11, No. 11. P. 1708.
- Ravyn M. D., Goodman J. L., Kodner C. B. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 1480.
- Ravyn M. D., Korenberg E. I., Oeding J. A. et al. // *Lancet.* 1999. Vol. 353 (9154). P. 722.
- Rejmanek D., Foley P., Barbet A., Foley J. // *Mol. Biol. & Evolut.* 2012. Vol. 29, No. 1. P. 391.
- Rikihisa Y. // *Clin. Microbiol. ReVol.* 1991. Vol. 4. P. 286.
- Rikihisa Y. // *Clin. Microbiol. ReVol.* 2011. Vol. 24. P. 469.
- Shibata S.-I., Kawachara M., Rikichisa Y. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38, No. 4. P. 1331.
- Shpynov S., Fournier P. E., Rudakov N. et al. // *Ann. NY Acad. Sci.* 2006. Vol. 1078. P. 378.
- Silaghi C., Hamel D., Thiel C. et al. // *VBZD.* 2011. Vol. 11, No. 4. P. 355.
- Silaghi C., Skuballa J., Thiel C. et al. // *TTBD.* 2012. Vol. 3. P. 49.
- Spitalská E., Boklis V., Kostanová Z. et al. // *Acta virol.* 2008. Vol. 52. P. 175.
- Standaert S. M., Dawson J. E., Schaffner W. et al. // *N. Engl. J. Med.* 1995. Vol. 333. P. 420.
- Stedingk von L. V., Gurtelschmid M., Hanson H. S. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 1997. Vol. 3. P. 573.
- Steiner F. E., Pinger R. R., Van C. N. // *J. Med. Entomol.* 1999. Vol. 36 (6). P. 715.
- Sulkowski M. S. and Dumler J. S. // *Infect. Dis. Clin. Pract.* 1998. Vol. 7. P. 252.
- Takano A., Ando S., Kishimoto T. et al. // *Microbiol. Immunol.* 2009. Vol. 53. P. 101.
- Tamamoto C., Seino N., Suzuki M. et al., // *Vet. Parasitol.* 2007. Vol. 25. P. 370.
- Telford S. R. III, Коренберг Э. И., Goethert H. K. и др. // *ЖМЭИ.* 2002. No. 6. С. 21.
- Telford III S. R., Dawson J. E., Katavolos P. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 6209.
- Thomas R. J., Birtles R. J., Radford A. D., Wodehiwet Z. // *J. Comp. Pathol.* 2012. Vol. 147 (2–3). P. 360.
- Vichova B., Majltova V., Nováková M. et al. // *VBZD.* 2010. Vol. 10 (5). P. 543.
- des Vignes F., Piesman J., Heffernan R. et al. // *J. Infect. Dis.* 2001. Vol. 183. P. 773.
- Vorobyeva N. N., Korenberg E. I., Grigoryan Y. V. // *Wiener Klin. Wochschr.* 2002. Vol. 114, No. 13–14. P. 610.
- Walker D. H., Dumler J. S. // *Principles and practice of infectious diseases.* New York. 1995. P. 1747.
- Walker D. H., Dumler J. S. // *EID.* 1996. Vol. 2. P. 18.
- Walker D. H., Dumler J. S. // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1997. Vol. 121. P. 785.
- Walker D. H., Ismail N., Olano J. P. et al. // *Transact. Amer. Clin. Climat. Ass.* 2004. Vol. 115. P. 375.
- Waner T., Strenger C., Keysary A. and Harrus S. // *Vet. Immunol. Immunopatol.* 1998. Vol. 66 (3–4). P. 237.
- Wallménius K., Pettersson J. H.-O. Jaenson T. G. T., Nilsson K. // *NNBD.* 2012. Vol. 3, No. 2. P. 100.
- Wen B., Jian R., Zhang Y., Chen R. // *J. Clin. Microbiol.* 2002. Vol. 40. P. 3286.
- Wen B., Rikihisa Y., Mott J. et al. // *Int. J. Syst. Bac.* 1995. Vol. 45. P. 250.
- Wong S. J., Thomas J. A. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 1959.
- Wuritu, Gaowa, Kawamory F. et al. // *Jap. J. Infect. Dis.* 2009. Vol. 62 (2). P. 142.
- Yaxue Z., Hongtao J., Qiuyue W. et al. // *VBZD/2011.* Vol. 11, No. 10. P. 1323.

- Yevich S. J., Sanchez J. L., DeFraités R. F. et al. // J. Infect. Dis. 1995. Vol. 171. P. 1266.
- Yu X-J., McBride J. W. and Walker D. H. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 4. P. 1137.
- Yu X-J., McBride J. W., Zhang X-F. and Walker D. H. // Gene. Vol. 248. P. 59.
- Yu X., Piesman J. F., Olson J. G. and Walker D. H. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1997. Vol. 56. P. 679.
- Zhan L., Cao W-C., Jiang J-F. et al. // EID. 2010. Vol. 16, No. 5. P. 764.
- Zhang J. Z., Popov V. L., Gao S. et al. // Cell Microbiol. 2007. Vol. 9. P. 610.
- Zhi N., Ohashi N., Rikihisa Y. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 17828.

5. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами

5.1. Введение

С иксодовыми клещами связано существование и передача человеку возбудителей ряда инфекционных заболеваний различной этиологии. Однако до середины 80-х годов по числу случаев наибольшую озабоченность в нашей стране вызывали клещевой энцефалит (КЭ) и клещевой риккетсиоз (КР), основные переносчики которых относятся не только к разным видам, но и к разным родам. Ареалы, несмотря на частичную симпатрию, в целом имеют различную ландшафтно-зональную приуроченность. Возбудители некоторых широко известных теперь клещевых облигатно-трансмиссивных инфекций просто еще не были открыты. Поэтому давно известная проблема существования так называемых сочетанных природных очагов и смешанных инфекций не имела, казалось бы, существенного практического значения и в целом выглядела актуально, но несколько академично. Обнаружение в мире, затем и в России группы этиологически самостоятельных ИКБ, уровень выявляемой заболеваемости которыми уже превышает аналогичные показатели для КЭ (раздел 3) и, кроме того, возбудителей МЭЧ и ГАЧ у переносчиков тех же видов (раздел 4) резко изменило представление об этиологическом «пейзаже» болезней, возникающих после укуса иксодовых клещей, и сделало возможность передачи ими микст-инфекций важной практической проблемой, требующей всестороннего изучения.

Возможность существования так называемых сочетанных природных очагов различных инфекций, в том числе и трансмиссивных, обсуждалась достаточно давно (Нецкий и др., 1961; Нецкий, Шайман, 1963, 1964; Пчелкина и др., 1968; Жмаева и др., 1969; Жмаева, Пчелкина, 1972; Буренкова, Пчелкина, 1976 и др.). Тем не менее исследователи, за очень редким исключением, продолжали изучать различные аспекты феномена природной очаговости в связи с каким-либо одним возбудителем. Как справедливо отметил А.Н. Алексеев (1989), в значительной мере это происходило по чисто методологическим или, точнее, гносеологическим

причинам, которые не способствовали комплексному синэкологическому подходу к познанию процессов, происходящих в очаговых экосистемах. В результате складывалось впечатление, в значительной мере сохранившееся до сих пор, что в природе, образно говоря, все обстоит так, как в программах и сборниках тезисов многих конференций по природной очаговости: каждая инфекция представлена отдельным «блоком».

Уже самые первые данные по эпидемиологии ИКБ показали, что распространение, сезонность, пути заражения, главные переносчики, причины контакта населения с природными очагами и клещами, возрастной и социально-профессиональный состав заболевших чрезвычайно близки к таковым при КЭ (разделы 2.5 и 3.5). В целом это свидетельствовало о принципиальном сходстве основных черт этих этиологически различных инфекций, возбудители которых теснейшим образом связаны в Евразии с клещами *I. persulcatus* и *I. ricinus* (Коренберг, Яфаев, 1989; Коренберг и др., 1990, 1991; Korenberg, 1994). На этом основании возникло предположение, что имеется вероятность одновременного заражения двумя возбудителями и микст-инфекциями (Коренберг и др., 1987, 1990), что заставило обратить серьезное внимание на эту проблему. Была показана реальность одновременной зараженности клещей возбудителями ИКБ и КЭ в природных очагах (Коренберг и др. 1990а) и впервые описан случай микст-инфекции (Коренберг и др., 1988; Мебель и др., 1988). В 1986–1988 гг. в Ленинградской области у 3% больных ИКБ и 8% от числа заболевших КЭ по клинико-серологическим данным протекала выраженная микст-инфекция. Это подтвердило большую практическую важность по существу новой для здравоохранения проблемы природноочаговых микст-инфекций (Коренберг и др., 1991).

Упомянутые выше, а также другие специальные исследования (Коренберг и др., 1975) не оставляли сомнений в том, что наличие сочетанных природных очагов — это, по выражению А. Н. Алексеева (1993), «скорее правило, нежели исключение из правила». Более того, представления о разнообразии природно-очаговых инфекций и инвазий привели к заключению, что в большинство экосистем в качестве компонентов обычно одновременно входят несколько патогенных и (или) условно-патогенных микроорганизмов (Литвин, Коренберг, 1999). Возникла необходимость проанализировать биоценологические, паразитологические и эпизоотолого-эпидемиологические основы микст-инфекций. Этому был посвящен ряд специальных публикаций (Коренберг, 2001, 2002, 2002а, 2003, 2008; Ушаков, 2001; Korenberg, 2003), которые привлекли внимание отечественных и зарубежных исследователей к общебиологической и медицинской значимости проблемы. В последние годы приток разрозненных фактических данных, имеющих к ней прямое отношение, увеличился лавинообразно. К настоящему времени различным ее аспектам уже посвящены сотни публикаций, заслуживающие специального дальнейшего анализа. Ниже будет изложена лишь основная суть проблемы, имеющая самое непосредственное отношение к стратегии дальнейших исследований в области природной очаговости инфекций, главным образом передающихся иксодовыми клещами, к их диагностике, терапии и профилактике.

5.2. Биоценоотические основы существования природноочаговых микст-инфекций

Центральное общебиологическое положение теории природной очаговости болезней заключается в том, что популяции ряда возбудителей, как и любых других биологических видов, существуют в естественных условиях, будучи членами определенных экосистем. Более того, из многих составляющих только популяция возбудителя — это обязательный и специфический компонент природного очага заразной болезни. Поэтому природным очагом называют любую естественную экосистему, включающую в качестве компонента популяцию возбудителя (раздел 1.2). Однако в чистом виде природные очаги какой-то одной инфекции — это только весьма условные умозрительные представления исследователей. Если такие очаги реально существуют, то, очевидно, как редкое исключение, поскольку *обычно в большинство очаговых экосистем, как уже отмечено выше, в качестве компонентов одновременно входят популяции нескольких патогенных и (или) условно-патогенных микроорганизмов* (Алексеев и др. 2001; Коренберг, 2001). Из инфекций, более или менее жестко экологически связанных с иксодовыми клещами на Алтае (Коренберг и др., 1975; Заломаев и др., 1976) и в Красноярском крае (Хазова, Ястребов, 2001), например, в одной экосистеме могут циркулировать возбудители КЭ, КР, Ку-рикетсиоза и туляремии. На Алтае это было показано до открытия патогенных для человека боррелий, эрлихий и анаплазм, которые, возможно, были бы также обнаружены при соответствующих исследованиях. Это особенно вероятно в отношении возбудителей ИКБ, поскольку, как теперь стало известно, с определенной частотой они встречаются практически везде, где есть клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus* (раздел 3.4.4). В России в разных ландшафтных условиях в экосистеме особенно часто могут сосуществовать возбудители КЭ, ИКБ, МЭЧ, ГАЧ (разделы 2, 3, 4), а также клещевого и Ку-рикетсиозов, туляремии, крымской геморрагической лихорадки, бабезиоза, возбудители нетрансмиссивных или необлигатно трансмиссивных инфекций (лептоспирозов, псевдотуберкулеза и др.) и некоторых других заболеваний вирусной, риккетсиозной, спирохетозной, протозойной и иной этиологии. В США боррелии, вызывающие болезнь Лайма, нередко встречаются совместно с возбудителями бабезиоза, эрлихиозов, анаплазмоза и риккетсиозов (Benach et al., 1985; Anderson et al., 1986; Kardatzke et al., 1992; Krause et al., 1996; Magnarelli et al., 1997; Mitchell et al., 1996; Хабиб, 1996). В Южной и Восточной Африке в одних и тех же экосистемах могут циркулировать тейлереи, бабезии, риккетсии и арбовирусы (Балашов, 1998). С популяционно-биоценоотических позиций важно, что во всех подобных экосистемах клещи — переносчики возбудителей, будучи их биологическими хозяевами и долговременными хранителями (Балашов, 1987, 1998), как бы фокусируют сложные биоценоотические связи, обеспечивающие одновременное существование популяций нескольких патогенных микроорганизмов (Коренберг, 1999).

Микропопуляции различных вирусов, риккетсий, бактерий и других микроорганизмов образуют в одной особи клеща своеобразный паразитоценоз (Павловский, 1934) или микросообщество (по терминологии Ю.С. Балашова, 2000). Несложно предвидеть, что даже для одного и того же вида клеща (или другого переносчика) в различных ландшафтно-экологических условиях могут быть характерны микросообщества, отличающиеся по набору образующих их микроорганизмов. Чем больше видовой ареал переносчика, тем разнообразнее должны быть его паразитоценозы. Еще более сложные паразитоценозы формируются в организме каждой особи резервуарных хозяев. Поскольку все или по крайней мере большая часть природных очагов представляют собой сложную многокомпонентную экосистему, саму возможность их существования и эпидемического проявления в значительной мере определяют взаимоотношения различных возбудителей в организме переносчика и резервуарного хозяина (т.е. на уровне паразитоценоза) и в экосистеме в целом (на популяционно-биоценотическом уровне). Итак, *широкое распространение природноочаговых микст-инфекций — это нормальное явление*, которое обусловлено закономерностями взаимоотношений различных возбудителей в организме переносчика и (или) резервуарного хозяина, а также в экосистемах в целом (Алексеев и др. 2001; Коренберг, 2001, 2002а; Алексеев, 2002, 2004). Помимо чисто природноочаговых, эта проблема, несомненно, имеет и более общие симбиотологические аспекты (Rehacek et al., 1987).

5.3. Взаимоотношения возбудителей в микст-инфицированных иксодовых клещах

По существовавшим ранее в значительной мере априорным представлениям «...при попадании в тело кровососущего членистоногого возбудителей нескольких инфекций между ними устанавливаются активные сложные взаимоотношения с преобладанием антагонизма... В результате происходит полное самоочищение хозяина от возбудителей, временное или постоянное подавление активности одного возбудителя другим, периодичность активности то одного, то другого возбудителя и т.д.» (Петрищева, 1972). Хотя признавалась и возможность «вполне благоприятного сожительства» возбудителей, в целом микст-инфицирование считали одним из факторов, ограничивающих их сохранение в организме переносчиков (Петрищева, 1967). В соответствии с более поздними и более осторожными взглядами, вследствие взаимодействия разных видов возбудителей в одной и той же особи переносчика возможно «взаимоисключение или благоприятствование» (Балашов, 1984). «В организме клеща разные возбудители могут быть индифферентны по отношению друг к другу или же один из них может подавлять развитие и размножение другого. Чаще, однако, подобные смешанные инфекции влияют на судьбу одного из партнеров» (Балашов, 1998). В этой связи в начале изучения реального значения одновременной зараженности клещей разными

возбудителями были проанализированы достаточно немногочисленные факты, накопившиеся к тому времени (Коренберг, 1999), причем в качестве отправных был принят ряд положений и ограничений:

- аргасовые клещи способны воспринимать и передавать многие виды возбудителей, совершенно несвойственные им в естественных экосистемах (Hoogstraal, 1985; Балашов, 1987); поэтому данные по смешанным инфекциям у аргозид (Петрищева, Пчелкина, 1972) не рассматривались;

- клещи имеют ряд симбионтных микроорганизмов, непатогенных для их прокормителей и человека; анализ их взаимоотношений со своими хозяевами и возбудителями болезней был предпринят ранее (Балашов, 1967; Алексеев, 1989, 1993) и выходит за рамки поставленной задачи;

- данные о наличии двух и более возбудителей, полученные их прямой изоляцией из партий спонтанно или экспериментально зараженных клещей, и тем более серологическими методами (Пчелкина, Жмаева, 1967; Жмаева и др., 1969; Пчелкина и др., 1969 и др.), не свидетельствуют о смешанной инфекции у отдельной особи переносчика и, строго говоря, по большей части непригодны для характеристики взаимоотношений патогенов в микст-инфицированных клещах;

- парэнтеральное заражение клещей (Rehacek et al., 1987 и др.), а также эксперименты *in vitro* на эксплантатах органов или культурах тканей клещей (Libikova et al., 1974; и др.), при всей их самоценности, совершенно не соответствуют естественному пути инфицирования членистоногих и поэтому адекватно не отражают судьбу возбудителей в их организме;

- патогенность возбудителей, передающиеся иксодовыми клещами, для самих клещей невелика; возбудители, как правило, относительно безвредны для клещей (Балашов, 1972, 1987, 1998).

Иксодовые клещи способны передавать патогенные для человека вирусы, риккетсии, бактерии, пироплазмы, а также некоторые другие простейшие и нематоды, которые изначально попадают к этим кровососущим членистоногим в процессе их питания. Для каждой из этих групп возбудителей характерны определенные особенности поведения и локализации в организме их переносчиков (Балашов, 1984а, 1987, 1998). Выявленное разнообразие взаимоотношений возбудителей с клещами К. Фридрих (Friedhoff, 1990) свел к четырем вариантам: 1. ограничение их присутствия пищеварительным трактом переносчика; 2. ограничение их присутствия полостями тела; 3. генерализованная (или системная, как чаще называют в зарубежных публикациях) инфекция, сопровождающаяся преимущественно внеклеточной локализацией микроорганизмов; 4. генерализованная инфекция, сопровождающаяся внутриклеточной локализацией микроорганизмов. Эта схема была использована в качестве основы для систематизации весьма «разношерстных» и, на первый взгляд, довольно противоречивых данных по микст-инфекциям у клещей. Два первых варианта встречаются довольно редко и связаны с *Trypanosoma thylacis* и *Hepatozoon canis*, соответственно (Friedhoff, 1990). Тем не менее не исключено, что в организме естественно инфицированно-

го клеща могут одновременно присутствовать возбудители, локализация которых соответствует любым возможным сочетаниям двух и более вариантов (2 и 3; 2 и 4 и др.). Например, нетрудно предположить, что среди клещей *Rhipicephalus sanguineus*, с которыми в основном связано распространение *H. canis* и возбудителя марсельской лихорадки (*Rickettsia conorii*), могут быть особи, микст-инфицированные этими микроорганизмами. Однако такие факты пока не описаны. Наиболее широко распространена микст-инфицированность клещей (рис. 5.1), сопровождающаяся: а) генерализованной инфекцией с преимущественно внеклеточной локализацией разных микроорганизмов (т.е. сочетание вариантов 3 и 3); б) генерализованной инфекцией с внутриклеточной локализацией разных микроорганизмов (сочетание вариантов 4 и 4); в) генерализованной инфекцией с внеклеточной и внутриклеточной локализацией разных микроорганизмов (сочетание вариантов 3 и 4).

Микст-инфицированность микроорганизмами с преимущественно внеклеточной локализацией у клещей. К этой группе возбудителей относятся главным образом спирохеты рода *Borrelia*, вызывающие у человека ИКБ. У иксодовых клещей они постоянно обитают на поверхности клеток кишечника и между ними. Генерализованная инфекция может иметь двоякое происхождение: а) миграция боррелий после начала пищеварения из кишечника в полость тела, а затем в различные органы (генерализация при питании клещей); б) приобретение диссеминированной инфекции от клещей предыдущей фазы в процессе их развития (системная инфекция у голодных клещей). Не исключено, что у некоторой части особей реализуются обе эти возможности, т.е. наличие боррелий во внутренних органах голодных клещей, видимо, не препятствует некоторой миграции спирохет из кишечника. У разных

Варианты взаимоотношений возбудителей с клещами (по Friedhoff, 1990)	Наиболее распространенные в природе варианты микстазараженности клещей (по Коренбергу, 1999)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Возбудитель присутствует только в пищеварительном тарте клещей (<i>Trypanosoma thuyfacis</i>) 2. Возбудитель присутствует только в полостях тела клещей (<i>Hepatoozon canis</i>) 3. Генерализованная (системная) инфекция, сопровождающаяся преимущественно внеклеточной локализацией возбудителей 4. Генерализованная (системная) инфекция, сопровождающаяся внутриклеточной локализацией возбудителей 	<p>3+3 (боррелиозно-боррелиозная смешанная инфекция)</p> <p>4+4 (вирусно-вирусная, риккетсиозно-риккетсиозная, вирусно-риккетсиозная, риккетсиозно-пироплазмозная смешанные инфекции)</p> <p>3+4 (боррелиозно-вирусная, боррелиозно-риккетсиозная, боррелиозно-пироплазмозная смешанные инфекции)</p>

Рис. 5.1

видов переносчиков зараженных разными видами боррелий наблюдается различная частота генерализованной инфекции (разделы 3.4.2 и 3.4.3).

На основании первых данных о совместной циркуляции разных видов этих спирохет в экосистемах Ленинградской области, Хабаровского края и Швейцарии, а также после обнаружения боррелий, отличающихся по структуре генома у особи клеща *I. ricinus* (Boerlin et al., 1992), было сделано предположение о том, что организм клеща может одновременно содержать более одного вида боррелий и что вследствие этого возможны заболевания людей микст-боррелиозной этиологии (Коренберг, 1993). Вскоре в разных регионах, включая Россию, были получены данные, подтвердившие это предположение (Leuba-Garcia et al., 1994; Humair et al., 1995; Pichon et al., 1995; Rijpkema, Bruinink, 1996; Rijpkema et al., 1996, 1996a, 1996b; Kirstein et al., 1997; Postic et al., 1997; Humair, Gern, 1998; Humair et al., 1998; Kurtenbach et al., 1998; Коренберг и др., 2002; Korenberg et al., 2002). Кроме того, у клещей *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus*, отловленных на северо-западе Европы (Aleksiev et al., 1999; Junttila et al., 1999; Токаревич и др., 2000; Алексеев и др., 2001), на Среднем Урале (Мухачева, Ковалев, 2011), в Сибири и на Дальнем Востоке (Ливанова и др., 2001; Рудакова и др., 2001; Рудакова, 2011), методом ПЦР обнаружена ДНК одновременно разных боррелий. Спирохеты, относящиеся к двум известным геномным подгруппам *B. garinii* и двум подгруппам *B. afzelii* одновременно циркулируют в природном очаге среди разных видов переносчиков и резервуарных хозяев (Коренберг и др., 2011). Совокупность этих и многих других фактов позволила констатировать, что любые практически возможные варианты боррелиозной микст-инфекции, включающие два и более вида, циркулирующие на определенной территории, повсеместно встречаются у голодных и напитавшихся (или частично напитавшихся) клещей во всех фазах их развития. Анализ результатов идентификации 365 изолятов из 12 административных территорий России (от Ленинградской до Южно-Сахалинской областей) и из ряда прилегающих стран (Postic et al., 1997) показал, что отсутствие миксткультур из того или иного пункта объясняется прежде всего недостаточно репрезентативным общим числом исследованных оттуда изолятов (Коренберг и др., 1997).

Очевидно, клещи становятся микст-инфицированными, одновременно или последовательно (на разных фазах развития) получая разные виды боррелий от своих прокормителей. В свою очередь, они одновременно или последовательно передают возбудителей резервуарным хозяевам. В Приуралье среди мелких лесных грызунов микст-инфицированные зверьки встречаются примерно вдвое чаще, чем среди клещей, но соотношение различных вариантов «смешанных» культур, полученных от этих зверьков и от переносчиков, практически сходно (Горелова и др., 1998). Резервуарные хозяева боррелий, неоднократно на протяжении жизни контактирующие с клещами, по всей видимости выполняют роль своеобразных аккумуляторов микст-инфекции в природных очагах ИКБ (Коренберг и др., 1997). Возможность горизонтальной и трансфазовой передачи микст-боррелиозной инфекции клещами в ходе эпизоотического процесса не вызывает сомнений. Клещи *I. ricinus* и *I. persulcatus* способны передавать микст-инфекцию и человеку. (Demaerschack et al., 1995; Rijpkema et al., 1997; Воробьева и др., 1998),

ДНК одновременно двух видов боррелий индигирована ПЦР-методом у голодных личинок *I. ricinus*, собранных с растительности (Rijpkema and Bruinink, 1996). Это свидетельствует о возможности трансвариальной передачи «смешанного» геномного материала, хотя такая передача этих спирохет вряд ли имеет скольконибудь существенное значение в эпизоотологии ИКБ (раздел 3.4.3).

Итак, изложенные факты не дают повод, чтобы заподозрить наличие интерференции между разными видами боррелий в организме иксодовых клещей. Клинико-эпидемиологическое значение микст-боррелиозной инфекции остается недостаточно изученным.

Микст-инфицированность возбудителями с внутриклеточной локализацией у клещей. Внутриклеточная локализация в организме клещей характерна для вирусов, риккетсий и пироплазм (Балашов, 1984, 1987, 1998; Friedhoff, 1990;). Априорный подход позволяет думать, что в очагах могут быть переносчики, микст-инфицированные микроорганизмами одной или разных групп.

Личинки *I. persulcatus*, зараженные одним вирусом КЭ или Повассан, в следующей фазе развития воспринимают и поддерживают размножение другого вируса, а микст-инфицированные нимфы передают оба вируса взрослым клещам (Чунихин и др., 1981). В кладках, отложенных клещами с двойной инфекцией, обнаружены оба вируса, однако в зараженных трансвариально личинках суперинфицирующий вирус не выявлен. Г. А. Хозинская (1986) обнаружила оба вируса в имаго *I. persulcatus* и *Haemaphysalis longicornis* после заражения личинок этих клещей вирусом КЭ, а полученных из них нимф вирусом Повассан, а также у имаго *H. longicornis* при обратном порядке заражения предшествующих фаз развития. Для суждения о характере взаимоотношений вирусов в организме клеща представляется важным, что при последовательном заражении успех трансфазовой передачи, как показано на *H. concinna*, определялся соотношением титров двух вирусов. «Если в момент суперинфицирования титр второго вируса значительно превышал титр вируса, полученного первым, то второй вирус независимо от порядка заражения получал преимущество при трансфазовой передаче». При одновременном заражении личинок *H. inermis* этими вирусами в дальнейшем они были обнаружены в нимфах. Для проверки способности *I. persulcatus* трансмиссивно передавать одновременно оба вируса было поставлено 8 опытов с клещами *I. persulcatus*, алиментарно зараженными вирусом КЭ, а затем вирусом Повассан, в трех случаях из восьми передали через укус оба вируса; еще в двух случаях передача вируса КЭ, возможно, сопровождалась передачей и вируса Повассан; в трех случаях положительные результаты выявлены только в отношении вируса КЭ, который был получен клещами первым (Хозинская, 1986). Эти опыты свидетельствуют о способности клещей в некоторых случаях трансмиссивно передавать одновременно два вируса. Трансвариальная передача двух вирусов была продемонстрирована для клещей *I. persulcatus*, последовательно зараженных на животных с вирусемией. Г. А. Хозинская пришла к общему выводу, что вирусы КЭ и Повассан размножаются в иксодовых клещах при одновременном или последовательном (на разных стадиях метаморфоза) заражении этих переносчиков и переда-

ются ими трансфазово, трансмиссивно и трансвариально. Ее опыты по выявлению возможной интерференции между вирусами в клещах *Hyalomma anatolicum* не дали однозначных результатов. Неясно почему, ссылаясь на описанные эксперименты, А. Н. Алексеев (1993) считает интерференцию вирусов в организме клещей неплохо изученным и хорошо документированным фактом, а на территории, где циркулируют оба вируса и преобладает *I. persulcatus*, по его предположению, «при вертикальной передаче может получить преимущество вирус КЭ». Убедительные факты, свидетельствующие об интерференции разных «клещевых» вирусов в организме их переносчиков, пока отсутствуют, за исключением случаев повторного инфицирования (суперинфицирования) клещей тем же вирусом (Davis et al., 1989).

Риккетсиозная смешанная инфекция экспериментально моделировалась с возбудителями Ку-риккетсиоза (*Coxiella burnetii*) и клещевого риккетсиоза (*Rickettsia sibirica*) на нимфах и имаго клеща *H. asiaticum*, которых заражали кормлением на лихорадящих морских свинках (Дайтер, 1979). При одновременном инфицировании клещей этими возбудителями оба агента размножались, но происходило взаимное подавление их репродукции. При последовательном инфицировании агент, полученный переносчиком первым, полностью препятствовал размножению второго возбудителя или подавлял его активность. Это было особенно четко выражено, если клещей заражали сначала *C. burnetii*, а затем (на следующей фазе развития) — *R. sibirica*. Угнетающее действие на дополнительный агент было более выражено у *C. burnetii*, чем у *R. sibirica*. А. Б. Дайтер объяснил это значительно более активным, чем у возбудителя КР, размножением риккетсий Бернета в клетках и тканях клещей и их «большей конкурентоспособностью в борьбе за клеточный субстрат». Хотя, по мнению некоторых исследователей (Friedhoff, 1990), рост видов *Rickettsia* происходит в основном в цитоплазме и нередко в ядре клеток, а *C. burnetii* пролиферируют только в фаголизосомах, в описываемых опытах колонии риккетсий Бернета иногда полностью заполняли цитоплазму отдельных гемоцитов клеща *H. asiaticum*. В целом развитие сочетанной риккетсиозной инфекции в организме клеща представляет собой, по мнению А. Б. Дайтера, пример «несовершенной конкуренции видов». Такая конкуренция, по всей видимости, далеко не всегда блокирует возможность микст-зараженности клещей в естественных условиях, что подтверждается одновременным выделением *C. burnetii* и *R. sibirica* от клещей *Dermacentor marginatus* и *I. persulcatus*, собранных в природных очагах (Гольдин и др., 1969; Шайман, Голованова, 1973). По данным А. А. Пчелкиной (1971) после совместного существования этих видов риккетсий в одной особи клеща они передаются трансвариально и трансмиссивно, не теряя своих иммуногенных и патогенных свойств.

Вирусно-риккетсиозная смешанная инфекция экспериментально моделировалась с вирусом КЭ и риккетсиями Бернета на нескольких видах клещей (Пчелкина и др., 1969; Жмаева, Пчелкина, 1972; Rehacek et al., 1987 и др.). Из-за перечисленных выше ограничений эти работы, к сожалению, не дают четких представлений о характере взаимоотношений между данными возбудителями в организме клещей. Можно лишь предполагать, что вирус и риккетсии способны сосуществовать в клещах и с той или

иной частотой одновременно передаваться некоторыми видами переносчиков. У клещей *D. marginatus*, собранных в природе, одновременно обнаружен вирус, вероятно из семейства *Bunyaviridae*, и *R. slovaca* (Diehl et al., 1980). Обнаружены клещи *I. ricinus*, одновременно зараженные риккетсиями и *Babesia microti* (Jadin et al., 1981).

Микст-инфицированность возбудителями с преимущественно внклеточной и внутриклеточной локализацией у клещей. Как уже отмечено выше, возможность широкого распространения боррелиозно-вирусной смешанной инфекции стала очевидной в связи с общностью переносчиков вируса КЭ и *B. burgdorferi* s.l. Первые фактические данные были получены в природных очагах Хабаровского и Пермского краев. Среди собранных с растительности взрослых *I. persulcatus* зараженность боррелиями, клещей без вируса КЭ и с вирусом оказалась практически идентичной, как и зараженность вирусом клещей без боррелий и с боррелиями (табл. 5.1). Было показано, что процент микст-зараженных клещей в популяции фактически представляет собой произведение двух показателей: их зараженности вирусом и боррелиями. Титры вируса у клещей оказались идентичными, независимо от наличия или отсутствия у них боррелий. Наиболее высокие дозы вируса содержали два клеща: 7,0 lg БОЕ/мл — при отсутствии боррелий и 7,04 — при наличии боррелий. Совокупность этих фактов позволила заключить, что наличие боррелий у клеща не имеет существенного значения для присутствия в его организме вируса КЭ, который, в свою очередь, не оказывает заметного действия на боррелий. В противоположность мнению, согласно которому вирусно-боррелиозная инфекция у клещей скорее исключение, чем правило (Alekseev, 1996), было сделано предположение о ее широком распространении (Коренберг и др., 1990).

Таблица 5.1. Результаты индивидуального бактериологического и вирусологического исследования взрослых голодных клещей *I. persulcatus* из сочетанных очагов КЭ и ИКБ Хабаровского и Пермского краев

Характер исследования и группа клещей	Хабаровский край (Коренберг и др., 1990)		Пермский край (Korenberg et al., 1999)	
	Исследовано особей	Из них зараженных	Исследовано особей	Из них зараженных
На зараженность боррелиями:				
без вируса	962	23,0 ± 2,7	553	23,0 ± 3,6
с вирусом	23	21,7 ± 17,2	136	29,4 ± 7,8
всего	985	22,9 ± 2,7	689	24,2 ± 3,3
На зараженность вирусом:				
без боррелий	745	2,4 ± 1,1	522	18,4 ± 3,4
с боррелиями	256	2,2 ± 2,0	167	24,0 ± 6,6
всего	971	2,4 ± 1,0	689	19,7 ± 3,0
На зараженность двумя возбудителями:	971	0,5 ± 0,4	689	5,8 ± 1,8

Более детальными исследованиями, показано, что в популяции *I. persulcatus* соотношение особей с разной степенью инфицированности боррелиями у клещей без вируса КЭ практически не отличается от аналогичного распределения среди вирусифорных клещей (рис 5.2). Точно также практически идентичными оказались гистограммы, отражающие распределение клещей с разной индивидуальной инфицированностью вирусом КЭ у особей без боррелий и инфицированных этими спирохетами (рис. 5.3). У микст-инфицированных клещей не обнаружено корреляции между показателями концентрации вируса и боррелий. На многолетнем репрезентативном материале показано, что параметры зараженности клещей вирусом КЭ и боррелиями ни в коей мере не зависят друг от друга (Korenberg et al., 2001). Эти данные опровергли точку зрения, согласно которой взаимоотношение боррелий и вируса в переносчике «...представляет своеобразную форму одностороннего антагонизма, при котором циркуляция боррелий ограничивает циркуляцию вируса КЭ, а присутствие вируса в клещах не только не препятствует, но возможно даже способствует передаче боррелий» (Алексеев и др., 1996), а также утверждения этих авторов, «...что успешной и неограниченной циркуляции вируса КЭ в природных очагах препятствует конкуренция боррелий».

Как одно из доказательств антагонизма между двумя этими патогенами использован расчет, по которому в очагах микст-зараженные клещи *I. persulcatus* встречаются по отношению к клещам с боррелиями в 10–11 раз реже, чем по отношению к клещам с вирусом (Алексеев и др., 1996; Алексеев, Дубинина, 1994, 1996). Однако это соотношение само по себе может о чем-нибудь свидетельствовать лишь при

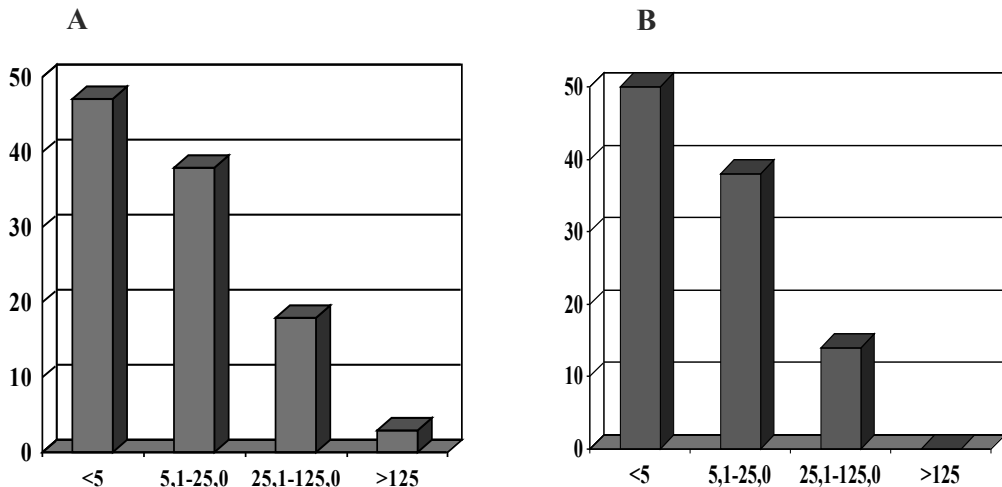


Рис. 5.2. Доля (в %) клещей с различной инфицированностью боррелиями среди зараженных взрослых голодных *I. persulcatus* (А – без вируса КЭ; В – с вирусом КЭ) в природноочаговой экосистеме Предуралья. Абсцисса – число боррелий на 100 полей зрения при стандартной методике просмотра витальных препаратов из кишечника клеща (Korenberg et al., 1999).

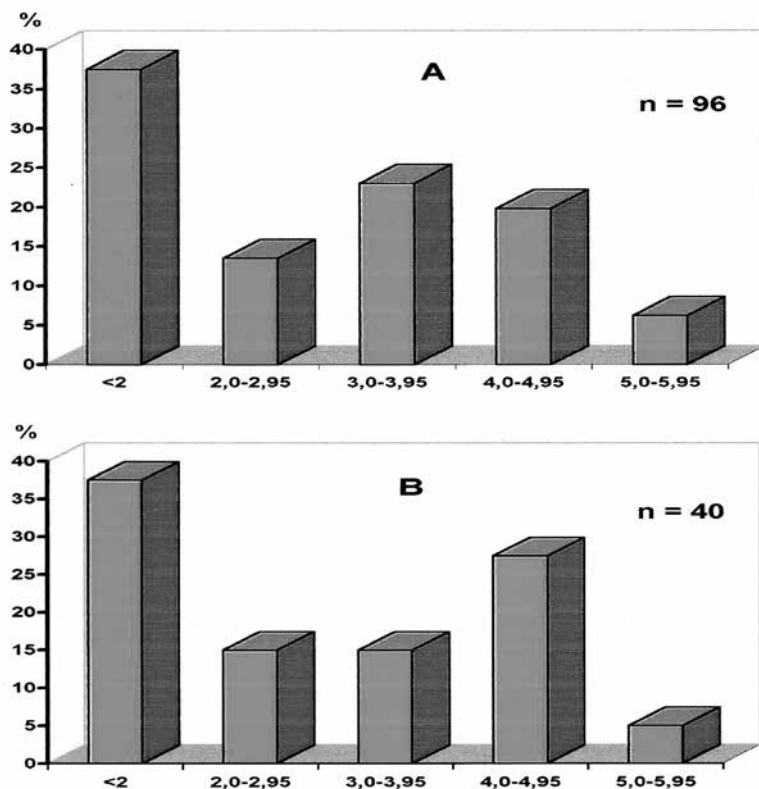


Рис. 5.3. Доля (в %) клещей с различной инфицированностью вирусом КЭ среди зараженных взрослых голодных *I. persulcatus* (А – без боррелий; В – с боррелиями) в природноочаговой экосистеме Предуралья. Абсцисса – титр вируса – PFU/ml (Korenberg et al., 1999).

совершенно одинаковой чувствительности примененных в данном исследовании методов индикации боррелий и вируса, чего, как правило, не бывает. Отсутствуют факты, подтверждающие предположение А. Н. Алексева (1993), что поверхностные антигены спирохет *B. burgdorferi*, находящихся в кишечнике клеща, блокируют вирус, поступающий с кровью, воздействуя на рецепторы вирусного капсида. Наличие антагонизма, заключающегося в подавлении вируса КЭ боррелиями в организме клеща-переносчика (Алексеев, 1993; Алексеев, Дубинина, 1994; Alekseev, 1995; Алексеев и др., 1996, 1998), по-прежнему остается совершенно необоснованным утверждением, критику которого (Васильева, Наумов, 1996) можно только поддержать. Приведенные выше данные подтверждают, что в организме микст-инфицированных клещей *I. persulcatus* нет интерферентных или антагонистических взаимоотношений между боррелиями и вирусом КЭ (Коренберг и др., 1990а). Это в большей степени согласуется с более ранними взглядами А. Н. Алексева (1989), согласно которым боррелии — синергисты арбовирусов, хотя также требует соответствующих доказательств.

Боррелиозно-рикеттсиозная смешанная инфекция, если иметь ввиду патогенные для человека риккетсии порядка *Rickettsiales*, зафиксирована у клеща *D. variabilis*, в гемолимфе которого были обнаружены риккетсии группы пятнистой лихорадки Скалистых гор, а в кишечнике — боррелии (Solberg et al., 1996). Первое или, возможно, одно из первых сообщений об одновременном инфицировании клещей боррелиями и эрлихиями появилось в США (Magnarelli et al., 1991). Там же, в штате Висконсин у 2 из 68 исследованных клещей *I. scapularis* были обнаружены *B. burgdorferi* и *A. phagocytophilum* (Pancholi et al., 1995). Ко-инфицированные этими возбудителями клещи *I. ricinus* обнаружены и в европейских странах (Cinco et al., 1997; Baumgarten et al., 1999; Leutenegger et al., 1999; Schouls et al., 1999; Christova et al., 2001). Предположение о том, что различные варианты микст-инфекции с присутствием эрлихий могут быть обнаружены у клещей и в нашей стране, были высказаны еще до выявления возбудителей этой группы на ее территории (Коренберг, 1999). В том же году ДНК *Ehrlichia* sp. и одновременно возбудителей ИКБ была обнаружена в России у клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* (Дубинина, Алексеев, 1999). У клещей двух этих видов из Тверской области молекулярно-биологическими методами индицированы одновременно *B. burgdorferi* s.l. и *A. phagocytophilum* (Masusava et al., 2008). ПЦР-положительные боррелиозно-эрлихиозные и боррелиозно-анаплазмозные иксодовые клещи обнаружены затем в ряде российских регионов. В эксперименте 51±15 % нимфы *I. scapularis* получали *A. phagocytophilum* при питании на зараженных мышах независимо от предшествовавшей инфицированности клещей боррелиями, и 85±10 % нимф получали от зараженных мышей боррелий независимо от предшествовавшей инфицированности клещей эрлихиями; в среднем 76±9 % нимф, зараженных боррелиями и 84±10 % клещей, зараженных эрлихиями, передавали этих возбудителей мышам, осуществляя передачу так же эффективно, как одного из них (Levin and Fish, 2000). Напитавшиеся нимфы передают сразу оба эти микроорганизма следующей фазе развития (Levin et al., 1999).

Боррелиозно-пироплазмозная смешанная инфекция выявлена в США в связи с микст-инфицированием возбудителями бабезиоза (*B. microti*) и болезни Лайма. Пироплазмы, как известно, — строго внутриклеточные паразиты. Бабезии развиваются в кишечнике клеща внутри эритроцитов позвоночных; гаметоциты обнаруживаются в цитоплазме пищеварительных клеток, где они находятся до превращения в подвижные гаметы, проникающие в гемолимфу, а затем в клетки различных внутренних органов клеща, в которых могут происходить повторные процессы спорогонии (Балашов, 1987; Friedhoff, 1990). Боррелии и бабезии были одновременно обнаружены у белоногих хомячков и пенсильванских полевок (*Microtus pennsylvanicus*) — хозяев предимагинальных фаз клеща *I. scapularis*. Это позволило предположить, что личинки переносчика могут получать от грызунов одновременно оба возбудителя и передавать их нимфам (Anderson et al., 1986). Предположение полностью подтвердилось экспериментально и, кроме того, продемонстрирована способность нимф *I. scapularis* передавать боррелии и бабезии

интактным хомячкам при питании на них (Piesman et al., 1987). При этом примерно 97 % личинок, питавшихся на ко-инфицированных хомячках, восприняли *B. microti* и 74 % *B. burgdorferi*, а среди нимф, перелинявших из микст-инфицированных личинок, у $71 \pm 16,3\%$ обнаружены оба возбудителя. В другом эксперименте (Mather et al., 1990) нимфы, кормившиеся в фазе личинки на ко-инфицированных *P. leucopus*, оказались примерно вдвое чаще зараженными спирохетами (82 %), чем бабезиями (34 %). Однако такая же разница наблюдалась и у нимф, полученных из личинок после их кормления на хомячках, инфицированных одним из возбудителей (92 % и 45 % соответственно). Зараженность нимф, кормившихся в личиночной фазе на ко-инфицированных лабораторных мышах была ниже, чем у клещей после их питания на мышах, инфицированных только одним возбудителем. Авторы вполне резонно объясняют эти отличия взаимоотношениями возбудителей не в клещах, а в организме разных позвоночных-хозяев. На одном из островов штата Коннектикут было $18,6 \pm 7,7\%$ микст-инфицированных нимф *I. scapularis*, а на другом — $8,2 \pm 3,2\%$, и отмечена положительная корреляция между их зараженностью боррелиями и бабезиями (Piesman, et al., 1986a). По некоторым данным зараженность клещей боррелиями в смешанных очагах примерно вдвое больше, чем бабезиями (Piesman, 1986). Изложенные факты не дают никаких оснований считать, что в клещах между *B. burgdorferi* и *B. microti* наблюдается явный антагонизм, как это делает А. Н. Алексеев (1993), который, правда, в более поздней публикации привел диаметрально противоположные данные: «Бабезии были встречены только в клещах, зараженных каким-либо другим возбудителем... Чаще всего они были встречены вместе с одним или двумя видами боррелий...» (Алексеев и др., 2008).

Сальмонеллезно-вирусная смешанная инфекция. Как известно, сальмонеллы способны существовать в различных средах и не относятся к числу облигатно-трансмиссивных возбудителей. Пребывание и размножение в организме клещей — это для сальмонелл скорее возможная случайность, чем необходимая закономерность. Взаимоотношения этих бактерий с клещами очень несовершенны, и в этой связи трудно говорить о каких-то адаптациях. Размножаясь в кишечнике (и в других органах), сальмонеллы разрушительно действуют на его эпителиальные клетки и внутреннюю среду, по сути дела травмируя клеща. *Salmonella enteritidis*, например, часто убивает клещей *D. andersoni*, несмотря на то, что иногда даже передается с яйцами следующей генерации (Parker, Steinhaus, 1943). Поэтому вполне естественно, что *Salmonella typhi murium* хорошо размножается в клещах *I. persulcatus*, инфицированных вирусом КЭ на предыдущей фазе развития, не оказывая при этом заметного воздействия на вирус. Однако при заражении сначала сальмонеллами, а затем вирусом, или при одновременном введении этих возбудителей, вирус не «приживается» в клещах (Кондрашова, 1974). С большой вероятностью можно предположить, что результат получится примерно сходным, если на месте вируса КЭ будут некоторые другие возбудители, существование которых в организме клеща связано с проникновением в их внутренние органы после первоначального поступления с пищей в кишечник. В этой связи, видимо,

не очень правомерно говорить об антагонизме между сальмонеллами и вирусом КЭ (Алексеев, 1993; Alekseev, 1995).

Примерно у 40 % взрослых таежных клещей, которые были собраны на сравнительно небольшой площади в южнотаежных лесах Предуралья и исследованы методом ПЦР, помимо геномного материала вируса КЭ, который интенсивно циркулирует в этой экосистеме, но в данном исследовании не тестировался, обнаружена ДНК возбудителей двух и более видов. Выявлено 17 различных сочетаний патогенов в «микст-инфицированных» особях, включая материал *A. phagocytophilum* и *Eh. muris* в одном клеще. При этом у 3 % «микст-инфицированных» клещей обнаружена ДНК четырех или пяти возбудителей (Korenberg et al., 2010). Это опровергает утверждения о том, что клещи не могут быть инфицированы более чем тремя патогенными для человека микроорганизмами (Алексеев и др., 2004), которые противоречат данным другой публикации этого же автора (Alekseyev et al., 2004), а *A. phagocytophilum* и *Eh. muris* не могут одновременно сосуществовать в организме клеща (Алексеев и др., 2004; Alekseyev et al., 2004). В окрестностях Санкт-Петербурга выявлены 18 различных комбинаций смешанного геномного материала в одном таежном клеще (Алексеев и др., 2008) и, по всей видимости, это тоже далеко не предел. Вместе с тем следует учитывать, что наличие в суспензии геномного материала того или иного возбудителя совсем не обязательно свидетельствует о присутствии у клеща в данный момент его неразрушенных бактериальных клеток или вирионов, а тем более об их различной поорганной локализации. Такие данные были получены электронной микроскопией разных органов клеща, которые дали положительные результаты при их исследовании методом ПЦР. Соответствующими электронными фотографиями документировано, что разные органы одного клеща могут одновременно содержать флавивирус (скорее всего вирус КЭ), боррелий, *E. muris* (Popov et al., 2007). Не исключено, что способность к множественному заражению клещей определяется их генотипом (Алексеев и др., 2008).

Итак, естественная микст-инфицированность иксодовых клещей различными возбудителями природноочаговых заболеваний — это, как свидетельствуют накопленные сведения, нормальное и широко распространенное явление. Пока нет данных, четко подтверждающих наличие антагонистических отношений между спирохетами, вирусами, риккетсиями и пироплазмами в организме клещей. Как подчеркнул Ю. С. Балашов (1984б), каждый возбудитель трансмиссивной инфекции обладает комплексом адаптаций (или преадаптивных свойств), обеспечивающих возможность проникновения в организм членистоногого и размножения в его органах и клетках. Если исходить из этого очевидного положения, антагонистические отношения между возбудителями в организме клеща по сути дела означают, что один из них блокирует такие адаптации другого или они конкурируют за вещества, необходимые для размножения. Однако этого не происходит. **В организме клеща, как правило, не возникают антагонистические отношения**

между разными возбудителями, поскольку они преимущественно локализируются в определенных органах и тканях или даже в определенных клеточных структурах, представляющих собой свойственные им своеобразные экологические ниши (Балашов, 1987, 1998; Friedhof, 1990; Коренберг, 1999; Korenberg et al., 1999). Это в значительной мере обеспечивает относительную автономность образуемых возбудителями паразитарных систем и возможность сосуществования нескольких разных паразитарных систем в одной экосистеме, т.е. смешанных природных очагов (Коренберг, 1999, 2002). Определенные конкурентные отношения, иногда сопровождающиеся у внутриклеточных паразитов интерференцией, могут иметь место, лишь когда возбудители занимают сходную экологическую нишу (например, при последовательном инфицировании клеща близкими вирусами).

5.4. Микст-зараженность иксодовых клещей и их хозяев

Клещи, содержащие разных возбудителей ИКБ, встречаются довольно часто. В Ирландии, например, они обнаружены у 13,1 % голодных имаго и нимф *I. ricinus* (Kirstein et al., 1997), а во Франции — у $2,4 \pm 1,9$ % нимф этого вида, собранных с растительности, причем 6 из 25 положительных клещей были заражены более чем 1 видом боррелий (Pichon et al., 1995). В Хорватии «смесь» разных боррелий идентифицирована у $8,9 \pm 5,1$ % голодных нимф и имаго (Rijpkema et al., 1996b). В горах Корконош (Чешская Республика), по результатам исследования методом РТ-ПЦР, 32 % клещей *I. ricinus* были ко-инфицированными, причем наиболее часто они одновременно содержали ДНК *B. garinii* и *B. afzelii* (Danielova et al., 2010). В Швейцарии из 32 изолятов от личинок, снятых с черных дроздов (*Turdus merula*), 2 оказались микстами (Humair et al., 1998); среди 81 изолята от нимф *I. ricinus*, снятых с белок (*Sciurus vulgaris*), 9 были микстами, которые содержались у $4,2 \pm 2,8$ % общего числа исследованных нимф (Humair, Gern, 1998). В лесах Приуралья, например, по данным многолетних посевов они составляют у взрослых *I. persulcatus*, собранных с растительности — $1,6 \pm 0,9$ %, а у нимф — $1,5 \pm 1,1$ %, причем микст-изоляты составили около 8 % всех изолятов, полученных от клещей (Горелова и др., 1998). В Северо-Западном регионе России у взрослых клещей этого же вида по результатам анализа методом ПЦР — от $4,5 \pm 0,8$ % до $19,0 \pm 6,7$ %, у *I. ricinus* — $4,3 \pm 1,4$ % были микст-инфицированы (Дубинина, Алексеев, 1999; Токаревич и др., 2000), в различных субъектах РФ и их административных районах Сибири и Дальнего Востока — от $1,7 \pm 1,2$ % до $5,8 \pm 3,2$ % (Рудакова С. А., 2011), а в Польше — $24,7 \pm 7,8$ % (Stanczak, 2000).

В разных природных очагах в зависимости от конкретных экологических условий в популяции таежного клеща может быть до 5–10 % взрослых особей, одновременно зараженных боррелиями и вирусом КЭ или содержащих геномный материал этих микроорганизмов (Коренберг и др., 1990; Хазова, Ястребов,

2001а; Хазова и др., 2009; Гришечкин и др., 2011). В некоторых природных очагах Западной Сибири по результатам исследования таежных клещей методом ПЦР этот показатель доходит до $18 \pm 3,8\%$ (Добротворский и др., 2002; Morozova et al., 2002).

В США 2% клещей *Amblyoma americanum*, снятых с людей, по результатам исследования методом ПЦР были ко-инфицированы *E. chaffeensis* и *B. burgdorferi* (Stromdahl, Evans, 2001); уровень боррелиозно-эрлихиозной микст-инфекции у клещей других видов составляет в разных штатах 4–26% (Coyle, Laft, 1995; Fish et al., 1996; Schwartz et al, 1997; Chang et al., 1998; Varde et al., 1998; Levin et al, 1999). В северной Польше, по результатам исследования методом ПЦР, у взрослых клещей *I. ricinus* этот показатель составляет 5% (Stanczak et al., 2000). Перечисленные публикации относятся к тому периоду, когда анаплазмы еще не были выделены в самостоятельный род.

Зараженность клещей *I. scapularis* одновременно *B. burgdorferi* и *B. microti* по американским данным доходит до 19% (Piesman et al, 1986a). Если добавить анаплазм, то инфицированность иксодовых клещей в Северной Америке и Европе двумя из этих возбудителей по обобщенным данным — не меньше $\leq 28\%$ (Swanson et al, 2006). ПЦР методом показано, что 26% взрослых и 6% нимф *I. scapularis* из Ветчестера (Нью-Йорк) были одновременно заражены боррелиями и эрлихиями ГЭЧ, хотя в целом распространение эрлихий среди клещей оказалось более ограниченным, чем боррелий, поскольку в некоторых клещевых популяциях эрлихии отсутствовали. Полагают, что боррелии и эрлихии могли быть получены клещами независимо и возможно даже от разных хозяев (Fingerle et al., 1998).

При экспериментальном подкожном заражении лабораторных мышей одновременно вирусами КЭ и Повассан в ряде случаев происходила их независимая репродукция, стимуляция инфекции и образование антигемагглютининов к ним. Перекрестная защита животных от суперинфицирующего вируса отмечена только при последовательном введении этих возбудителей с интервалом 2–3 недели. В целом экспериментаторы (Хозинская, Погодина, 1982) не отметили конкуренции при одновременном заражении мышей этими вирусами.

Одновременная зараженность млекопитающих и птиц двумя и более видами боррелий — это обычное явление для природных очагов ИКБ, причем из кожных биоптатов, взятых из разных частей тела одного резервуарного хозяина, могут быть изолированы разные возбудители (Коренберг и др., 1997; Postic et al., 1997; Humair, Gern, 1998; Humair et al., 1998; Kurtenbach et al., 1998; Korenberg et al., 2002). В Пермском крае, например, 17% изолятов, полученных от мелких лесных грызунов, оказались микст-культурами (Горелова и др., 1998). Там же из внутренних органов полевки-экономки (*M. oeconomus*) впервые изолирована боррелиозно-лептоспирозная микст-культура (Горелова и др., 1996). Дальнейшими исследованиями от микст-инфицированных полевок-экономок были одновременно изолированы *B. garinii* и лептоспиры серогруппы *Grippotyphosa*, а также *B. garinii* в сочетании с *Leptospira interrogans* серогруппы *Javanica*, а рыжая полевка оказа-

лась зараженной *B. afzelii* и лептоспирами серогруппы *Javanica*. Это позволяет предположить, что в организме по крайней мере исследованных мелких млекопитающих различные спирохеты не подавляют друг друга (Коренберг и др., 2011). Резервуарные хозяева, по всей видимости, «аккумулируют» микст-инфекцию в природных очагах ИКБ, что способствует ее горизонтальной передаче (Коренберг и др., 1997).

В Предуралье посевом внутренних органов выявлены рыжие полевки (*Cl. glareolus*), одновременно зараженные боррелиями и бабезиями, а один из 34 исследованных зверьков, кроме этих патогенных для человека микроорганизмов, был инфицирован и гранулоцитарными эрлихиями (Telford et al., 2002).

В США обнаружены мелкие млекопитающие — наиболее частые хозяева преимагинальных фаз основного переносчика возбудителей болезни Лайма и бабезиоза клеща *I. scapularis* — одновременно зараженные этими патогенами (Anderson et al., 1986, 1991; Hofmister et al., 1998). В штате Коннектикут 60,4 % белоногих хомячков имели серологические и микробиологические подтверждения прошлой или текущей боррелиозной и эрлихиозной, боррелиозной и бабезиозной (46,8 %), бабезиозной и эрлихиозной (31,6 %) и 15 % — всех трех инфекций (Stafford et al., 1999). Интенсивная боррелиоз-эрлихиозная эпизоотия среди оленьих хомячков (*P. maniculatus*), мексиканских лесных хомячков (*Neotoma mexicana*) и других грызунов, поддерживаемая клещами *I. spinipalpis*, описана в Колорадо (Zeidner et al., 2000). Судя по характеру патологии и иммунного ответа, в организме экспериментальных животных *B. burgdorferi* sensu stricto (возбудитель Лайм боррелиоза) и *A. phagocytophila* (возбудитель ГЭЧ) ведут себя как синергисты (Zeidner et al., 2000a; Thomas et al., 2001). С этими данными плохо согласуются выводы об интерференции в организме белоногих хомячков между этими микроорганизмами, сделанные на основании небольшого эксперимента (Levin and Fish, 2001). У 2,6 % грызунов 10 видов, отловленных в разных провинциях Китая и исследованных методом ПЦР, был обнаружен геномный материал одновременно 2-х или 3-х возбудителей, включая *A. fagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *F. tularensis* и риккетсий клещевой группы (Zhaqn et al., 2009).

В целом взаимоотношения различных возбудителей при смешанной инфекции в организме теплокровных животных и влияние этих взаимоотношений на характер течения микст-инфекции в той или иной мере изучены главным образом в экспериментах на лабораторных животных. В самой общей форме они позволяют лишь заключить, что сочетание одних и тех же возбудителей в организме разных видов позвоночных или при неодинаковых получаемых ими дозах и интервалах между заражениями может вызывать различное, иногда противоположное действие. Кроме того, особенно большое значение имеет иммунологическое состояние макроорганизма, причем смешанное инфицирование способно привести как к активизации, так и к подавлению его защитных механизмов (Дунаева, 1972). Однако в данном случае принципиально важно, что *многие виды позвоночных несомненно могут быть резервуарными хозяевами*

вами нескольких видов возбудителей и передавать их иксодовым клещам одновременно или последовательно при выкармливании разных фаз развития этих членистоногих.

5.5. Пространственные отношения сопряженных паразитарных систем и динамика лоймопотенциала природных очагов

Широта распространения того или иного типа смешанных природных очагов определяется прежде всего степенью симпатрии ареалов соответствующих возбудителей и спецификой их требований к абиотическим и биотическим факторам среды. Естественно, что на периферии или в пессимальных частях ареала определенного возбудителя он существует только в наиболее подходящих для него экосистемах, и обычный для большей части области его симпатрии с иным возбудителем тип смешанного очага здесь встречается редко или вообще отсутствует. Особенности пространственного распределения некоторых возбудителей и многолетней динамики образованных ими паразитарных систем могут быть хорошо выражены даже в тех случаях, когда они передаются одним и тем же основным переносчиком, что свидетельствует, прежде всего, об экологической специфике самих микроорганизмов. На северо-востоке США, например, все исследованные популяции клеща *I. scapularis* содержали боррелий, но эрлихии в некоторых из них обнаружить не удалось (Fish et al., 1996). Эти эколого-географические закономерности не следует смешивать с особенностями размещения возбудителей, связанными с их взаимоотношениями внутри экосистемы или паразитоценоза. Так, зараженность вирусом КЭ, боррелиями и двумя этими возбудителями клещей, собранных в конкретном очаге с растительности и с тела пациентов, практически идентична (Korenberg et al., 2001). Между рядами значений зараженности *I. persulcatus* вирусом и боррелиями в различных ландшафтных подзонах Тюменской области, например (Колчанова, 1997), отмечается хорошая корреляция ($r=0,87$). Поэтому между показателями заболеваемости КЭ, ИКБ и одновременно двумя этими инфекциями также прослеживается хорошая корреляционная связь, а микст-заболевания чаще встречаются там, где больше случаев каждой из инфекций (Korenberg et al., 2001; Волкова и др., 2002; Килевой и др., 2002; Хазова и др., 2002; Лихачева и др., 2003). В Пермском крае и во многих других регионах наибольший риск заражения ИКБ, как и КЭ и, соответственно, наиболее высокий уровень заболеваемости обеими инфекциями характерны для подзон южной тайги и хвойно-широколиственных лесов (Симкин, 1974; Альпова и др., 2000). Многолетние наблюдения показывают, что в смешанном природном очаге изменения зараженности популяции таежного клеща вирусом КЭ и боррелиями происходят синхронно (Korenberg et al., 1999). Следовательно ежегодные фазы эпизоотического распространения (циркуляции) возбудителя, характерные для эпизоотологии каждой из этих клещевых облигатно-трансмиссивных инфекций и наступаю-

щие в ходе повторяющихся эпизоотических циклов после осенне-зимних фаз резервации (Литвин, Коренберг, 1999), в пределах одной экосистемы имеют сходные основные активирующие их механизмы и, по всей видимости, не препятствуют друг другу. Эти факты совершенно не согласуются с высказываниями о том, что боррелии препятствуют успешной циркуляции вируса в природных очагах и способствуют уменьшению их опасности в отношении КЭ (Алексеев и др., 1996; Алексеев, Дубинина, 1996).

Первые российские изоляты, отнесенные к разным геновидам, были выделены от клещей *I. persulcatus*, собранных практически на двух очень небольших участках, расположенных в одном случае в Ленинградской области, а другом — в Хабаровском крае (раздел 3.2.2). Это свидетельствовало о возможности одновременной циркуляции разных видов боррелий в одном и том же биоценозе. Стало очевидно, что существование сочетанных очагов этиологически различных ИКБ с одинаковыми основными переносчиками и путями циркуляции боррелий делает возможным инфицирование человека разными возбудителями на одной территории. Информация о пространственной структуре паразитарных систем, образованных при тождестве основного переносчика разными видами возбудителей внутри сочетанного природного очага, пока очень фрагментарна. На биоценоотическом уровне, как показано в отношении *B. garinii* и *B. afzelii*, отсутствует какая-либо пространственная дифференциация между паразитарными системами, образованными этими спирохетами, а микст-зараженные клещи *I. persulcatus* и мелкие млекопитающие равномерно распределены

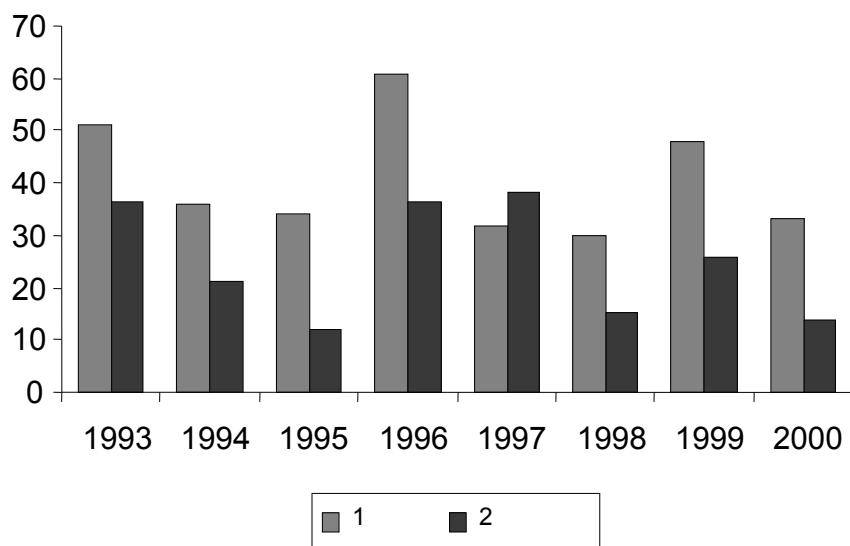


Рис. 5.4. Многолетние изменения зараженности (в % по вертикальной оси) взрослых голодных *I. persulcatus* (1 – боррелиями; 2 – вирусом КЭ) на стационаре в европейских южнотаежных лесах Предуралья (Korenberg et al., 1999).

по территории сочтанного природного очага (Ковалевский и др., 1998). При этом никто не высказывал обсуждаемое (Алексеев и др., 1996) мнение о пространственной разобщенности популяций таежных клещей, зараженных разными возбудителями. В целом экосистемы, в которых циркулируют два или несколько видов боррелий, в связи с большим разнообразием видового состава и вариантов симпатрии ареалов этих спирохет более характерны для Евразии, чем для Северной Америки.

5.6. Заболеваемость микст-инфекциями, связанными с иксодовыми клещами

Предположение о возможности заражения людей боррелиозной микст-инфекцией от клещей (Коренберг, 1993) подтверждено обнаружением методом ПЦР одновременно ДНК двух и даже трех различных видов возбудителей в биологических жидкостях пациентов с нейроборрелиозом, в кожных биоптатах больных с мигрирующей эритемой и акродерматитом (Demaerschallck et al., 1995; Rijpkema et al., 1997), а также изоляцией микст-культуры боррелий из эритемы пациента (Горелова и др., 1998). Исходя из уровня заболеваемости ИКБ до 2000 г. и показателей микст-зараженности клещей было сделано предположение, что ежегодно в нашей стране может быть ориентировочно до 150–250 случаев боррелиозной микст-инфекции (Коренберг, 2001). В 2007 и 2010 гг. методом ПЦР исследованы пробы крови, взятые в остром периоде заболевания у 155 пациентов Пермской краевой инфекционной больницы с несомненным диагнозом ИКБ, который был подтвержден результатами их неоднократного серологического тестирования, примерно у 6 % больных одновременно выявлена ДНК *B. garinii* и *B. afzelii*. По данным А. Б. Коньковой-Рейдман и др. (2010), аналогичный показатель у больных, заразившихся в природных очагах Южного Урала, существенно выше: на долю боррелиозной микст-инфекции приходится 22,5 % всех случаев ИКБ, что по ряду экологических причин (раздел 3.4.4) представляется маловероятным. Если, в связи с отсутствием более достоверных данных, априори признавая фрагментарность и неполноту приведенных показателей, использовать их применительно к числу случаев ИКБ, зарегистрированных в последние годы (рис. 1.3), то можно предполагать, что среди них в среднем ежегодно около 550–600 заболеваний были вызваны одновременно двумя боррелиозными возбудителями.

Как только выяснилось, что патогенные боррелии и вирус КЭ имеют в Евразии одинаковых основных переносчиков, которые определяют возможность совместной циркуляции и сходство ареалов этих возбудителей, стало понятно, что должно иметь место одновременное заражение людей этими агентами (Korenberg et al., 1986; Коренберг и др., 1987; 1990). Предположение о возможности подобных микстов было высказано клиницистами задолго до открытия возбудителей ИКБ (Киселева, 1967). Показано, что главные биологические и социальные факторы, определяющие основные черты эпидемиологии КЭ и ИКБ, очень сходны, что и де-

лает возможным регулярные микст-заражения (раздел 3.5.2). Первые случаи энцефалитно-боррелиозных микст-заболеваний были выявлены в Австрии и в России (Kristoferitsch, 1986; Коренберг и др., 1988; Мебель и др., 1988). Сейчас они обнаружены в ряде стран Центральной Европы (Cimperman et al., 2002) и во многих административных территориях России. В Словении, например, такие случаи установлены у 3,6% пациентов с острыми менингитами и менингоэнцефалитами, возникшими после укуса клеща *I. ricinus* (Cimperman et al., 1998), а в целом около 15% заболеваний с таким анамнезом оказались ко-инфекциями (Childs and Strle, 2001). В нашей стране — это более частое явление, поскольку зараженность клеща *I. persulcatus*, с укусом которого связана подавляющая часть заражений, вирусом КЭ и боррелиями как правило, выше, чем *I. ricinus*. В г. Перми, например, с таежными клещами, микст-инфицированными вирусом КЭ и боррелиями, в течение одного сезона по расчетам, основанным на показателях зараженности переносчиков, и документированным числом обращений горожан в медицинские учреждения по поводу укусов клещей, в среднем контактируют более 30 человек из каждых 100 тысяч (Korenberg et al., 2001). У каждого пятого ребенка, заболевшего в этом регионе после укуса клеща, развивается микст-инфекция, причем преобладают (почти 60%) боррелиозно-энцефалитные заболевания (Мерзлова, Самаров, 2012).

По первым данным складывалось впечатление, что в целом ежегодно в России может быть около 450 подобных заболеваний (Korenberg, 1994), но вскоре стало понятно, что их значительно больше. В Екатеринбурге, например, в конце 90-х годов, характеризовавшихся высокой заболеваемостью КЭ, сочетание двух инфекций отмечено у $10,7 \pm 2,2\%$ всех больных КЭ и ИКБ, что составляет примерно 6,3 на 100 тыс. человек (Амосов и др., 1998; Лесняк, Амосов, 1999), в Восточной Сибири — 7,8% (Злобин и др., 2002). Примерно такая же доля случаев КЭ от общего числа пациентов с таким диагнозом, находившихся в 2003–2006 гг. в инфекционной больнице г. Перми, протекала совместно с ИКБ (Фризен и др., 2007). В целом в Свердловской и Тюменской областях такие микст-заболевания составляют 3,4–4,8% всех случаев, связанных с клещами (Лесняк и др., 1995; Волкова и др., 2002; Козлов и др., 2002), в Ленинградской области и Санкт-Петербурге — в 15% (Лобзин и др., 2000), в Иркутской области — примерно в 17% таких случаев (Хабудаев и др., 2000); в Томской области по, возможно, несколько завышенным цифрам — 25–30%, а в некоторые годы даже до 40% случаев ИКБ протекает одновременно с КЭ (Лепехин и др., 1998; Удинцева и др., 2000), на Южном Урале — 38,4% от общего числа случаев ИКБ (Конькова-Рейдман и др., 2010). У детей в Кемеровской области от 17 до 49,4% случаев клещевых нейроинфекций представлены сочетанием КЭ и ИКБ (Дементьев и др., 2002). Исходя из этих данных и учитывая, что в 1996 г. в России было зарегистрировано более 16,5 тыс. случаев КЭ и ИКБ, а в 1999 г. около 18,5 тыс., даже по самой скромной оценке среди них должно было быть 1600–1800 соответствующих микст-заболеваний или примерно 1,1–1,2 на 100 тыс. человек.

Среди клещей, снятых с пациентов в г. Перми, микст-инфицированными в разные годы оказались от $1,2 \pm 0,7\%$ до $3,3 \pm 0,7\%$. Многолетний ряд таких по-

казателей коррелирует ($r = 0,67$) с рядом показателей частоты микст-инфекции. В целом изменения по годам заболеваемости КЭ, ИКБ и этими микст-инфекциями происходят довольно синхронно: коэффициент корреляции (r) между заболеваемостью КЭ и ИКБ составляет 0,73, между ИКБ и микст-инфекциями — 0,53, между КЭ и энцефалитно-боррелиозными заболеваниями — 0,94, а между суммарным показателем (КЭ + ИКБ) и микст-инфекциями такой этиологии — 0,84 (Korenberg et al., 2001). Утверждение, что далеко не все больные боррелиозом получают вирус КЭ от микст-инфицированных клещей (Алексеев, Дубинина, 1996), было основано на данных о редкости соответствующих микст-заболеваний, которые были получены, когда медики делали самые первые шаги по их выявлению. Такие заключения, как и выводы этих авторов, имеющие прямое отношение к практическому здравоохранению, о замещении КЭ боррелиозом, выглядят преждевременными.

Зная частоту контакта населения с клещами, а также зараженность переносчиков вирусом КЭ и боррелиями одновременно, можно определить показатели возможности ежегодных контактов жителей той или иной местности с этими возбудителями. Однако полученные таким образом цифры существенно превышают реальный уровень заболеваемости и реальный риск заражения не только двумя возбудителями одновременно, но и каждой инфекцией в отдельности. Так, более чем в 70 % таежных клещей, снятых с больных ИКБ в Екатеринбурге, обнаружен вирус КЭ, а клинические проявления этого заболевания вместе с ИКБ были в несколько десятков раз реже (Лайковская и др., 1993). Это объясняется отнюдь не неподтвержденным пока ослаблением симптомов КЭ при сочетанном заболевании с ИКБ (Жукова, 2002), а тем, что далеко не каждый инфицированный клещ, укусивший человека, инокулирует пострадавшему такую дозу возбудителя, которая способна вызвать клинически манифестирующееся заболевание. При КЭ подавляющая часть заражений заканчивается бессимптомным течением инфекционного процесса с развитием иммунного ответа (раздел 2.6). Риск заболевания КЭ и ИКБ в значительной мере определяют сильно инфицированные клещи, которые всегда составляют лишь меньшую часть от общего числа инфицированных переносчиков (разделы 2.4.4 и 3.4.4). Кроме того, среди клещей *I. persulcatus*, которые имеют боррелий, лишь часть особей содержат возбудитель в слюнных железах и сразу после начала кровососания способны передать его человеку (раздел 3.4.4). Вместе с тем далеко не все люди, подвергшиеся укусу клеща, обращаются в медицинские учреждения для его удаления. Реальное число людей, подвергающихся укусу клещей значительно больше, чем регистрируемое. Поэтому приведенные выше показатели лишь весьма приближенно характеризуют риск одновременного заражения людей КЭ и ИКБ.

На Дальнем Востоке, помимо микст-заболеваний КЭ и ИКБ, довольно регулярно встречаются случаи ИКБ совместно с КР и отмечены одновременные заражения возбудителями сразу трех этих инфекций (Захарычева и др., 2001; Якушева и др., 2002). Так, у 8,1 % пациентов, заболевших во Владивостоке после укуса

клеща в 2000–2001 гг., развился КЭ и ИКБ, у 2,5 % — КЭ и КР, у 3,2 % — ИКБ и КР, а у 0,8 % — заболевание, вызванное одновременно тремя возбудителями названных инфекций (Леонова и др., 2002).

Эрлихиозно-боррелиозные заболевания описаны в США (Barton et al., 1990; Paparone et al., 1994; Mazzella et al., 1996). В России серологически и клинически верифицированные случаи, вызванные одновременно возбудителями МЭЧ и ИКБ, а также МЭЧ и КЭ, впервые выявлены в Пермском крае (Воробьева и др., 2000), причем около 25 % больных МЭЧ одновременно перенесли КЭ или ИКБ (Григорян и др., 2001).

Боррелиозно-бабезиозные заболевания неоднократно описаны в разных частях США и в Канаде (Grunwald et al., 1983; Benach et al., 1985; Marcus et al., 1985; dos Santos et al., 1999). В штате Коннектикут антитела к возбудителям сразу двух заболеваний (*B. burgdorferi* и *B. microti*) при скрининговых исследованиях выявлены у 66 % обследованных (Thompson et al., 2001). Подобные микст-заболевания распространены также в Западной и Центральной Европе (Ahkee, Ramirez, 1996; Hulinska, Votupka, 2002). Антитела одновременно к двум этим возбудителям были выявлены в 0,1 % сывороток крови доноров из района с более высокой заболеваемостью и отсутствовали в сыворотках из районов, где заболевания встречаются реже (Gerber et al., 1992). По этим данным можно заключить, что даже среди доноров встречаются люди, которые имели контакт с двумя антигенами, хотя это совершенно не обязательно происходило одновременно.

В ряде описаний американских авторов эрлихиозно-боррелиозных случаев (Nadelman et al., 1997; Belongia et al., 1999, 2001), судя по «географии» заболеваний, по всей видимости, речь идет о ГАЧ, который в те годы еще называли эрлихиозом. На северо-востоке США, в штате Коннектикут 10–11 % пациентов с диагнозом Лайм боррелиоз одновременно были больны ГАЧ и бабезиозом (Хабиб, 1996, Krause et al., 1996; Stafford et al., 1999). Ко-инфекция боррелиоза с эрлихиозом и (или) бабезиозом обнаружена у 75 (39 %) из 192 пациентов, причем 4 человека (2 %) были инфицированы сразу тремя этими возбудителями (Krause et al., 2002). В США и Дании у 3,8 % больных в ранней стадии болезни Лайма в нРИФ выявлена сочетанная с ГЭЧ инфекция (Goodman et al., 1996; Johnson et al., 1996); в Норвегии 10,2 % пациентов с ИКБ дали положительную реакцию также и с антигеном ГЭЧ (Bakken et al., 1996), а на юге Германии — 11,4 % (Heimer et al., 1996). Эти работы относятся к тому периоду, когда серодиагностика ИКБ и ГАЧ осуществлялась в основном в нРИФ. Исследование в иммуноблоте со специфическим антигеном возбудителя ГЭЧ сывороток пациентов с ранним Лайм боррелиозом подтвердило микст-инфекцию в 19,9 % случаев (Ravyn et al., 1998). Однако, в серологической диагностике подобных заболеваний в те годы не было полной ясности, поскольку по мнению некоторых исследователей так называемые белки теплового шока в некоторых случаях могли быть причиной перекрестов между боррелиями и эрлихиями в иммуноблоте (Wong et al., 1997). По другим данным применение специфического антигена, приготовленного с использованием

возбудителя ГЭЧ, не дает существенных перекрестных серологических реакций с возбудителем болезни Лайма (Ravyn et al., 1998). Несомненно, однако, что вероятность одновременного заражения человека от микст-инфицированного клеща достаточно велика. Так, в Северо-Западном регионе России из 69 больных, пострадавших от присасывания клеща, 15 (примерно 22%) были одновременно больны ИКБ и ГАЧ (Лобзин и др., 2002). В Пермском крае около 75%–85% от всех лабораторно подтвержденных случаев ГАЧ — это микст-инфекции ГАЧ и ИКБ, а также ГАЧ и КЭ. Так, в весенне-летний период 2010 г., например, в Пермскую краевую инфекционную больницу были госпитализированы и подвергнуты комплексному клинико-лабораторному обследованию 332 пациента с заболеваниями, возникшими после присасывания клещей. У 79 (23,8%) из них диагностирован ГАЧ в виде моно- и микст-инфекции, причем только у 12 человек выявлена моноинфекция. Микст-инфекция ГАЧ в сочетании с ИКБ подтверждена серологическим и ген-диагностическим методами в 45 случаях (57% всех перенесших ГАЧ). В остальных 22 случаях выявлена микст-инфекция ГАЧ в разнообразных сочетаниях с КЭ, МЭЧ и лептоспирозом или одновременно с этими инфекциями и ИКБ. (Тетерин и др., 2012). Там же, как затем и в Омской области (Пеньевская и др., 2009), выявлены комбинации трех различных инфекций у взрослых и у детей: КЭ+ИКБ+ГАЧ; КЭ+МЭЧ+ГАЧ (Фризен и др., 2007; Мерзлова, Самаров, 2012). В Кемеровской области у детей ежегодно до 48% заболеваний, связанных с клещами, составляют микст-инфекции (Попонникова, Пиневиц, 2009).

Число таких примеров можно значительно увеличить. Они свидетельствуют о том, что микст-инфекции, возбудители которых передаются иксодовыми клещами — это, судя по частоте клинически выраженных микст-заболеваний, отнюдь не редкая случайность, а обычное и широко распространенное явление. Вероятность заражения ими очень велика. В г. Иркутске, главным образом за счет ИКБ+КЭ, они составляли в 1997–1998 гг. 13,8% всех заболеваний, передаваемых клещами, а еще 20,4% случаев остались нерасшифрованными (Злобин и др., 2002). Изложенное резко изменило представление об этиологическом «пейзаже» болезней, возникающих после укуса иксодовых клещей. Стало ясно, что один экземпляр переносчика способен при укусе одновременно заразить человека двумя и более возбудителями. Следовательно, *любое заболевание, возникшее в результате укуса клеща, следует рассматривать как потенциальную микст-инфекцию*. Возможность передачи клещами микст-инфекций переросла в актуальную практическую проблему здравоохранения (Коренберг, 2001).

5.7. Клинические проявления и диагностика микст-инфекций

При отсутствии патогномоничных признаков одной или одновременно двух инфекций заключение о наличии микст-заболевания делают, как правило, по результатам серологических исследований. *Важно не смешивать такие случаи*

с последовательными заболеваниями: пациенты могут в данное время переносить в острой форме инфекцию, вызванную одним возбудителем при наличии антител к совершенно другому, с которым связан предшествовавший инфекционный процесс, который мог протекать в манифестной или инapparантной форме (Walker, 1998; Thompson et al., 2001; Belongia, 2002; Korenberg, 2003). Поэтому наличие в крови пациента специфических антител (особенно в низких титрах) одновременно к разным возбудителям само по себе не подтверждает микст-заболевания. На севере Среднего Запада США, например, от 9 % до 16 % обследованных имели в разных сочетаниях антитела к возбудителям болезни Лайма, бабезиоза и ГЭЧ (Mitchell et al., 1996; Belongia et al., 1999). В некоторых районах Швеции антитела к боррелиям и эрлихиям одновременно обнаружены у 3 % населения (Dumler et al., 1997). Во Владивостоке в 2000–2001 гг. из 243 пациентов, обследованных в связи с укусом клеща, у 61 (25,1 %) были обнаружены антитела к двум или даже к трем возбудителям и лишь у 35 из них (14,4 %) действительно наблюдалось одновременное развитие микст-инфекционного процесса (Леонова и др., 2002). На северо-востоке США 13 % обследованных добровольцев имели антитела более чем к одному возбудителю из числа передающихся клещами, но лишь у 5 пациентов были обнаружены доказательства сочетанного заболевания (Hilton et al., 1999). Поэтому только достоверное нарастание титров антител к двум (или более) возбудителям или сероконверсия IgM на IgG к соответствующим возбудителям могут свидетельствовать о протекающей микст-инфекции, что далеко не всегда учитывают исследователи. В последние годы в литературе появились (Лепехин и др., 1998, 2000; Levin and Talaska, 1999; Удинцева и др., 2000; Захарычева и др., 2001; Martino et al., 2001; Sumner et al., 2001; Якушева и др., 2005 и др.) и продолжают появляться публикации, в которых эти давно изложенные (Коренберг, 2001) необходимые условия для заключения о микст-этиологии заболевания не приняты во внимание, а методика и принципы клинико-лабораторной диагностики просто не описаны. Это лишает возможности судить о достоверности полученных результатов.

Боррелиозно-боррелиозная микст-инфекция. Особенности нозоформ, вызываемых каждым из евразийских возбудителей ИКБ, на репрезентативном клиническом материале пока недостаточно изучены (раздел 3.6). В еще большей степени это относится к микст-боррелиозной инфекции, подтвержденной бактериологическими или ген-диагностическими методами. Важно получить по этому поводу достоверные данные вместо появившихся совершенно необоснованных умозаключений (Дубинина, Алексеев, 1999).

Боррелиозно-энцефалитная микст-инфекция. У пациентов с такой микст-инфекцией начало заболевания чаще, чем при ИКБ, бывает острым (Жукова и др., 2002), чаще, чем при КЭ наблюдаются различные проявления общеинфекционного синдрома (Лобзин и др., 2000а; Лукашова и др., 2000; Жукова и др., 2002; Федчук и др., 2002) и происходят более существенные изменения в антиоксидантной системе организма, чем у больных ИКБ или КЭ (Кощевец и др., 2000). У детей при

сочетанной инфекции КЭ и ИКБ отмечено преобладание безэритемной формы боррелиоза (Мерзлова, Самаров, 2012); при лихорадочной форме практически во всех случаях наблюдаются неврологические проявления различной степени тяжести. Они имеют преходящий характер и связаны с возрастными анатомо-физиологическими особенностями нервной системы, функционирующей в условиях выраженной интоксикации (Попонникова, Субботин, 2002; Попонникова и др., 2007). Однако в 13,5% случаев (почти в 5 раз чаще, чем при моноинфекции ИКБ) у детей при сочетанном заболевании КЭ и ИКБ развивается менингоэнцефалит, сопровождающийся задержкой продукции антител с изменениями цитокинового статуса; в исходе во всех случаях отмечен органический дефект со стороны ЦНС (Попонникова, Субботин, 2002а; Попонникова и др., 2007; Бедарева и др., 2010). При этом смешанная нейроинфекция часто протекает как мягкая менингоэнцефаломиелополирадикулопатия (Кравчук, 1993). По данным некоторых клиницистов микст-инфекция КЭ и ИКБ у детей в целом характеризуется тяжелым течением и не сопровождается характерными для моноинфекций симптомами (Дементьев и др., 2002). Есть подозрение, что так называемая полирадикулоневритическая форма КЭ в действительности связана с инфицированием боррелиями (Лесняк, Амосов, 1999). В целом в клинической картине микст-инфекции обычно доминируют признаки какого-либо одного заболевания, причем чаще ИКБ (Лесняк, Амосов, 1999; Лобзин и др., 2000а). Нельзя не учитывать, что в любом регионе преобладают стертые или инаппарантные формы КЭ (раздел 2.6). Такие пациенты, как правило, вообще не обращаются к врачу и не попадают в стационары. Поэтому чисто статистически ИКБ должен значительно чаще встречаться в сочетании с очень легкими, стертыми формами КЭ, что и наблюдается на практике (Лесняк, Амосов, 1999; Лобзин и др., 2000а). В Екатеринбурге, например, стертая форма КЭ отмечена почти в 51–70% случаев, сочетанных с ИКБ (Амосов и др., 1998; Волкова и др., 2002), а в Перми — в 72% таких заболеваний наблюдалась лихорадочная форма КЭ (Щипицина и др., 2002). В клинической картине таких заболеваний преобладали признаки, характерные для ИКБ, а не для КЭ (Лайковская и др., 1993; Падалян и др., 1993). Весьма вероятно, что именно клинические проявления боррелиоза заставляют таких пациентов обращаться за медицинской помощью, и это способствует выявлению инаппарантных форм КЭ. В результате складывается несколько искаженное впечатление о более легком течении КЭ в сочетании с ИКБ. В Пермском крае микст-инфекции такой этиологии составляют 16,5% всех «смешанных» случаев (Фризен и др., 2008). Репрезентативные данные свидетельствуют о том, что в действительности в структуре клинических форм моно КЭ и моно ИКБ нет значительных отличий от частоты различных форм для случаев сочетания этих инфекций. Показано, правда, на сравнительно небольших группах пациентов, что при сочетании КЭ с безэритемной формой ИКБ прослеживаются те же закономерности антителообразования по отношению к вирусу, как и при моно КЭ, хотя специфический иммунный ответ к боррелиям формируется несколько позже (Базарный и др., 2010). Летальность среди

больных с микст-инфекцией в Свердловской области практически не отличается от летальности при КЭ (1,2 и 1,9% соответственно). Сделан вывод об отсутствии влияния ИКБ на развитие тяжелых форм КЭ (Волкова и др., 2002). Вместе с тем несомненно заслуживает внимания и проверки на большем клиническом материале вывод о том, что эритема, характерная для ИКБ, которую в данном случае авторы (Лесняк, Амосов, 1999) ошибочно трактуют как неспецифическую воспалительную реакцию на месте присасывания клеща, способствует более мягкому течению КЭ, и поэтому при микст-инфекции может рассматриваться как благоприятный фактор. После острого периода микст-инфекции больные нуждаются в длительном диспансерном наблюдении для выявления возможного резидуального или прогрессивного течения заболевания (Кравчук, 1993), которое, по всей видимости, может быть связано с персистенцией одного или обоих возбудителей. При боррелиозно-энцефалитной микст-инфекции рекомендовано проводить лечение обоих заболеваний (Лайковская, Лесняк, 1999), причем мнение о нежелательности назначения тетрациклинов, которые обычно эффективны в начальном периоде ИКБ, в связи с возможным угнетением этими препаратами иммунного ответа к вирусу КЭ (Алексеев и др., 2000) требует обстоятельного обоснования.

Боррелиозно-эрлихиозная и боррелиозно-анaplазмозная микст-инфекция. Пока описано недостаточное число энцефалитно-эрлихиозных (Воробьева и др., 2000; Лобзин и др., 2002; Vorobyeva et al., 2002) и боррелиозно-эрлихиозных заболеваний. Однако уже понятно, что их клинические проявления могут быть разнообразными, но в большинстве случаев усиливаются признаки общеинфекционного синдрома, а гемограмма имеет изменения, характерные для эрлихиоза (Воробьева и др., 2000; Лобзин и др., 2002; Vorobyeva et al., 2002).

В Предуралье сочетание ИКБ и ГАЧ — наиболее часто встречающееся микст-заболевание, возникающее после укуса клеща (примерно 65–70% всех случаев смешанной этиологии) у взрослых (Тетерин и др., 2012) и реже (около 20%) — у детей (Мерзлова, Самаров, 2012). Клиническое течение ГАЧ в сочетании с локализованной стадией ИКБ примерно у 60% таких больных сопровождается общеинфекционным синдромом: недомогание, слабость, непродолжительное (2–4 дня) повышение температуры, озноб (в 35–40% случаев), головная боль (примерно у четверти больных), реже головокружение. У трети больных отмечена инъекция сосудов склер, реже — гиперемия слизистых оболочек ротоглотки, иногда лица. Полилимфаденопатия выявлена у 14% больных, миалгии — у 5%, артралгии — у 4%. У небольшой части больных развились функциональные нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы: относительная брадикардия, сердцебиение, незначительные боли в области сердца. Более чем у половины пациентов наблюдалось увеличение печени. Биохимический анализ крови выявил повышение активности АЛТ в 1,5–2 раза почти у половины пациентов, причем максимальные показатели наблюдались на первой неделе заболевания. Эти проявления легкого гепатита были непродолжительными и полностью купировались через 5–7 дней применения этиотропной терапии. Поражение почек зарегистрировано

у 26 % пациентов, о чем свидетельствовали изменения ряда показателей при общем анализе мочи. В нескольких случаях развилась общемозговая симптоматика или определялись симптомы менингизма в разгар заболевания. У большинства пациентов выявлена лейкопения до $2,9 \times 10^9/\text{л}$. Изменения в общем анализе мочи и гемограмме были кратковременными и нормализовались в первые три дня этиотропного лечения доксициклином. В целом ГАЧ в сочетании с локализованной стадией ИКБ может протекать в манифестной и инаппарантной формах, причем несколько легче, чем моноинфекция ГАЧ, но с более значительной лихорадочной реакцией и висцеральными поражениями, чем при аналогичной стадии моноинфекции ИКБ (Тетерин и др., 2012).

При ГАЧ в сочетании с диссеминированной стадией ИКБ общеинфекционный синдром имел место у 90 % больных: в подавляющем большинстве таких случаев — повышение температуры тела обычно до фебрильной, реже — до субфебрильной (у 2 больных температурная реакция имела двухволновый характер с возникновением второй волны через 4–7 дней после первой; вторая волна была непродолжительной — до 3 дней с субфебрильной температурой). У большей части пациентов лихорадка продолжалась до 4–7 дней, но в редких случаях стойкая субфебрильная температура держалась в течение 10–14 дней. Общеинфекционный синдром часто проявлялся ознобом, головной болью, слабостью и недомоганием, реже — головокружением. У части больных отмечена инъекция сосудов склер, реже — гиперемия лица, в некоторых случаях — бледность кожных покровов. Более чем у 70 % больных отмечена гиперемия слизистой оболочки ротоглотки, которая иногда сопровождалась катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей (першение в горле, сухой кашель, заложенность носа). У нескольких человек имела место полилимфаденопатия. Более чем у 65 % больных отмечены поражения опорно-двигательного аппарата: миалгия в области икроножных мышц и мышц плечевого пояса, боли в крупных суставах. У третьей части пациентов имели место сердцебиение, относительная брадикардия, боль в области сердца, повышение АД до 140–180/90–100 мм рт. ст. без предшествующей артериальной гипертензии. Увеличение печени наблюдалось у 75 % заболевших. Примерно у половины пациентов отмечено увеличение активности АЛТ в сыворотке крови в 1,5–11 раз, причем зачастую ее максимальные показатели достигались в первые 3–4 дня заболевания, но в некоторых случаях уровень АЛТ нарастал постепенно и достигал максимума на 10–12 день от начала болезни. На фоне антибактериальной терапии проявления острого безжелтушного гепатита купировались в течение 8–10 дней. У половины больных наблюдалось поражение почек, проявлявшееся изменениями ряда показателей при общем анализе мочи. У трети больных отмечены различные сравнительно легкие нарушения со стороны нервной системы, но в единичных случаях в разгар заболевания появлялись менингеальные симптомы.

В США анаплазмозно-боррелиозная инфекция протекает тяжелее, с более выраженными проявлениями общеинфекционного синдрома, чем моноинфекция

Лайм боррелиоза (Nadelman et al., 1997; Krause et al., 2002; Swanson et al., 2006). В России, по крайней мере в Предуралье, такие различия не наблюдаются, однако при микст-инфекции достоверно чаще наблюдались нарушения со стороны печени (Тетерин и др., 2012). Эти отличия в характере клинического течения подобных микст-заболеваний скорее всего связаны с различной этиологией как боррелиоза, так и ГАЧ в Старом и Новом Свете (разделы 3.2.2 и 4.2.2).

Другие микст-инфекции, возникающие вследствие укусов клещей. При одновременном заражении Лайм боррелиозом и бабезиозом, например, тяжесть и продолжительность болезни увеличиваются, при этом появляются дополнительные клинические признаки и симптомы (Persing, Conrad, 1995; Krause et al., 1996; Thompson, 2001; Swanson et al., 2006), причем механизм этого явления пока не вполне ясен (Thompson et al., 2001). Вместе с тем по данным некоторых исследователей бабезиоз не ухудшает долговременные проявления боррелиоза (Wang et al., 2000).

При сочетании ИКБ с КР наблюдается длительная лихорадка, продолжающаяся в среднем 10 дней. Тяжелое клиническое течение отмечено при сочетании одновременно трех нозологических форм: КЭ, ИКБ и КР. Оно сопровождалось высокой и длительной (от 10 до 30 дней) лихорадкой, обильной пятнисто-папулезной сыпью, лимфоаденопатией, гепато- и спленомегалией (Леонова и др., 2002).

Учитывая богатство фауны и экологических особенностей иксодовых клещей, широту их связи с этиологически многообразными группами возбудителей болезней (Балашов, 2009), априори можно предполагать, что разнообразие вариантов микст-заболеваний, распространенных с большей или меньшей частотой в разных ландшафтных зонах, окажется значительно большим, чем уже выявлено. Их число неизбежно будет увеличиваться в связи с описанием неизвестных ранее возбудителей, чему способствует применение современных молекулярно-биологических методов (разделы 1.3 и 1.4). В Пермском крае, например, в последние годы, помимо моно ИКБ, КЭ, ГАЧ и МЭЧ, в общей сложности около 16% заболеваний, возникающих после укуса клеща при одновременном заражении двумя или более возбудителями этих заболеваний, составляют различные варианты микст-инфекций. Но, кроме этого, около 22% всех случаев, возникающих после укуса клеща, остаются нерасшифрованными (Коренберг и др., 2007). В такой ситуации еще большее значение приобретает оптимизация методов лабораторной диагностики заболеваний, которые могут достоверно подтвердить диагностическое заключение. В этой связи чрезвычайно актуальна разработка доступных практическому здравоохранению тест-систем, которые позволяли бы выявлять антитела одновременно к нескольким возбудителям, особенно если принимать во внимание колоссальный общий объем серологических исследований, который ежегодно проделывают лечебные и профилактические учреждения (Коренберг, 2001).

Алгоритм диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. ИКБ, КЭ, ГАЧ и МЭЧ имеют довольно много сходных клинических черт, особенно в дебюте заболевания, например, спектр проявлений общеинфекционного синдрома. Правильная клиническая диагностика микст-инфекций — это сложная задача,

поскольку в одних случаях могут возникать клинические симптомы только одной нозологической формы, в то время как вторая имеет стертое или латентное течение; в других случаях одновременно проявляются клинические признаки нескольких нозологических форм (Фризен и др., 2008). В такой ситуации как при амбулаторной, так и при клинической практической диагностике ключевую роль играет алгоритм диагностической тактики врача, позволяющий аргументированно поставить предварительный диагноз, исходя из которого назначается соответствующая терапия и лабораторно-инструментальное обследование больного (рис. 5.5). По результатам обследования диагноз подтверждается или уточняется, а лечение в случае необходимости может и должно быть скорректировано. При этом, как уже отмечено (раздел 5.6), следует исходить из того, что любое заболевание, возникающее после укуса клеща, может быть моно- или смешанной инфекцией, вызванной одним, двумя или даже тремя микроорганизмами.

С апреля по октябрь при обращении к врачу пациентов, в анамнезе которых был факт присасывания клеща или посещения леса на эндемичной территории, их необходимо обследовать на весь комплекс заболеваний, встречающихся в данном регионе, возбудители которых передаются клещами. Наличие на коже вокруг места присасывания клеща мигрирующей эритемы диаметром более 10 см — это патогномоничный признак эритемной формы ИКБ. Остальные заболевания, как и безэритемная форма ИКБ, не имеют патогномоничных симптомов. Развитие общеинфекционного синдрома, как уже отмечалось, обычно наблюдается при

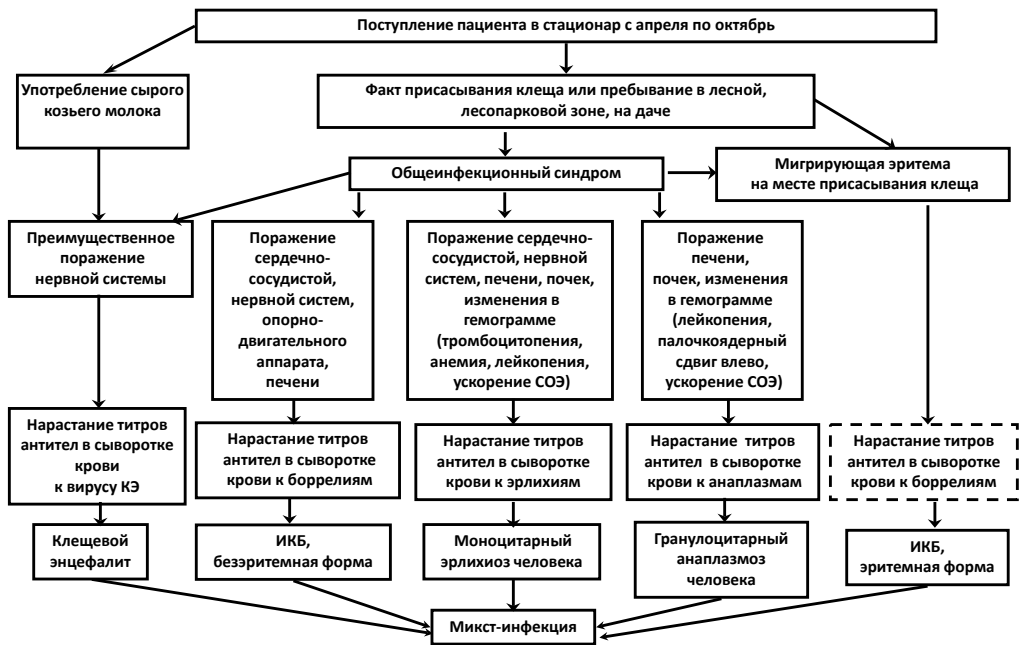


Рис. 5.5. Алгоритм диагностики инфекций, передающихся клещами (Коренберг и др., 2007; Фризен и др., 2008).

всех инфекциях, заражение которыми может произойти при укусе клеща, что затрудняет их диагностику. Поэтому, по мнению Н. Н. Воробьевой и других инфекционистов (см. Коренберг и др., 2007), следует выделять опорные симптомокомплексы, указывающие на наиболее характерную для определенных нозологических форм системную или органную патологию.

Так, при доминировании нарушений со стороны нервной системы (общемозговые, менингеальные и очаговые симптомы) наиболее вероятен диагноз КЭ. Сочетание поражения кожи (вторичные эритемы, лимфоцитоза) и нервной (синдромы менингита, энцефалита, нейропатии), а также сердечно-сосудистой (кардиалгии, артериальная гипертензия, миокардит) систем, печени (острый безжелтушный гепатит), опорно-двигательного аппарата (миалгии, артралгии) указывают на развитие ИКБ. В более поздний период этого заболевания о нем свидетельствует хронический атрофический дерматит и (или) рецидивирующий артрит. Комбинация нарушений со стороны ЦНС (серозный менингит), печени (острый безжелтушный гепатит) с изменениями в периферической крови (тромбоцитопения, лейкопения, относительная лимфоцитопения, увеличение СОЭ) часто свидетельствует о МЭЧ. Наличие острого безжелтушного гепатита, изменений в гемограмме (лейкопения, палочкоядерный сдвиг влево, лимфоцитоз, повышение СОЭ) и в общем анализе мочи (изостенурия, протеинурия, лейкоцитурия, эритроцитурия) характерно для ГЭЧ.

Во всех перечисленных случаях, а также при иных сочетаниях ряда симптомокомплексов (возможное развитие микст-инфекций) следует проводить серологические исследования на все инфекции, передающиеся клещами и выявленные в данном регионе. При этом при серологическом обследовании пациента особое диагностическое значение имеет четырехкратное нарастание титра антител к одному из возбудителей, а для заключения о типе микст-инфекции — к двум и более возбудителям или сероконверсия IgM на IgG в динамике заболевания. Чрезвычайно важные молекулярно-биологические методы, например наиболее распространенный метод ПЦР, могут дать положительный результат только в тот период заболевания, когда исходя из особенностей патогенеза каждой инфекции есть вероятность, что живой возбудитель или его ДНК (или РНК) могут присутствовать в тестируемом биоматериале. На практике оптимальные результаты лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, дает сочетание серологических и молекулярно-биологических методов (раздел 7).

Краткое заключение. Выше были рассмотрены наиболее очевидные аспекты проблемы микст-инфекций, возбудители которых связаны с иксодовыми клещами. Однако, кроме того, компонентами одной экосистемы, как было отмечено выше, могут быть возбудители ряда не облигатно-трансмиссивных и вообще не трансмиссивных заболеваний, включая сапронозные, а также условно-патогенные микроорганизмы. Резервуарные хозяева и (или) клещи могут быть одновременно заражены, например, возбудителями вирусов КЭ и Укуниими, КЭ и Западного Нила (Ефремова и др., 1999), лептоспироза и ИКБ (Горелова и др.,

1996; Коренберг и др., 2011), туляремии и ИКБ, туляремии и клещевого риккетсиоза (Хазова и др., 2009), боррелиями и бартонеллами (Mietze et al., 2011) и т.д. Уже появились первые данные о заболеваниях клещевым риккетсиозом в сочетании с ИКБ, КЭ, МЭЧ и ГАЧ (Воробьева и др., 2009; Гришечкин и др., 2011), а КЭ и ИКБ — с хроническим описторхозом и некоторыми другими инфекциями (Портнягина, 1986; Степанова К. Б., 2002, 2003, 2004; Степанова Т. Ф., 2002), а также о пораженности населения микст-паразитогами (Панюшкина, Старостина, 2009). Характер возможного взаимодействия всего комплекса этих патогенных для человека организмов на разных уровнях их биологической организации нуждается в детальном изучении. Накопление принципиально новых фактов в этой области и их обобщение — одно из наиболее актуальных направлений дальнейшего изучения природной очаговости болезней и профилактики соответствующих заболеваний (Коренберг, 2000).

5.8. Литература

- Алексеев А. Н. // Паразитологический сборник. Л., 1989. Вып. 36. С. 5.
- Алексеев А. Н. // Система клещ-возбудитель и ее эмерджентные свойства. СПб., 1993. 204 с.
- Алексеев А. Н. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. 2002. Т. 2, № 4. С. 14.
- Алексеев А. Н. // РЭТ-инфо. 2004. № 3 (51). С. 10.
- Алексеев А. Н., Буренкова Л. А., Васильева И. С. и др. // Мед. паразитол. 1996. № 4. С. 9.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В. // ДАН. 1994. Т. 338, № 2. С. 259.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В. // Журн. Инфекц. патологии. 1996. Т. 3, № 4. С. 5.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Волкова Л. И., Вашукова М. А. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 8.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Семенов А. В. // Матер. Круглого стола в рамках Всерос. Научн. конф. «Клинические аспекты в инфектологии». СПб., 2001. С. 9.
- Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Юшкова О. В. // Функционирование паразитарной системы «клещ-возбудители» в условиях усиливающегося антропогенного пресса. СПб., 2008. 146 с.
- Алексеев А. Н., Рудаков Н. В., Дубинина Е. В. // Мед. паразитол. 2004. № 4. С. 31
- Алыпova И. И., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 9.
- Амосов М. Л., Лесняк О. М., Надеждина М. В., Бардина Т. Г. // Актуальные проблемы природноочаговых инфекций. Ижевск, 1998. С. 214.
- Базарный В. В., Корикова М. Ю., Анкудинова М. В. // Вестник Урал. Гос. Мед. Акад. 2010. Вып. 21. С. 174.
- Балашов Ю. С. // Паразитологический сборник. Л., 1967. Вып. 23. С. 8.
- Балашов Ю. С. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина М., 1972. С. 162.
- Балашов Ю. С. // Зоол. журн. 1984. Т. 63, вып. 3. С. 325.
- Балашов Ю. С. // Паразитологический сборник. Л., 1984а. Вып. 32. С. 22.
- Балашов Ю. С. // Паразитологический сборник. Л., 1987. Вып. 34. С. 48.
- Балашов Ю. С. // Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб., 1998. 285 с.
- Балашов Ю. С. // Паразитология. 2000. Т. 34, вып. 5. С. 361.
- Балашов Ю. С. // Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. Наука. СПб., 2009. 357 с.
- Бедарева Т. Ю., Попонникова Т. В., Галиева Т. Ю. и др. // Бюлл. Сиб. мед. 2010. Т. 9, № 3. С. 36.
- Буренкова Л. А., Пчелкина А. А. // Тез. докл. III Всесоюзн. совещ. по теоретической и прикладной акарологии. Ташкент. 1976. С. 265.
- Васильева И. С., Наумов Р. Л. // 1996. Т. 4 (1–2). С. 53.
- Волкова Л. И., Анкудинова М. В., Русаков И. Л., Охулкова О. Г. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 89.
- Воробьева Н. Н., Григорян Е. В., Коренберг Э. И. // Проблемы клещевых и паразитарных заболеваний. СПб., 2000. С. 21.
- Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. и др. // Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 77.
- Воробьева Р. Н., Иванов Л. И., Здановская Н. И., Дерягина Н. Н. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 87.
- Гольдин Р. Б., Прусакова З. М., Шайман М. С., Ястребов В. К. // ЖМЭИ. 1969. № 8. С. 31.
- Горелова Н. Б., Беллингер Э., Постик Д., Ковалевский Ю. В. // Мед. паразитол. 1996. № 4. С. 53.

- Горелова Н. Б., Коренберг Э. И., Постик Д., Ковалевский Ю. В. // Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 76.
- Григорян Е. В., Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И. // Клинические перспективы в инфектологии. СПб., 2001. С. 57.
- Гришечкин А. Е., Морозова О. В., Щучинова Л. Д. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2011. № 2 (57). С. 12.
- Дайтер А. Б. // Паразитология. 1979. Т. 13, вып. 1. С. 8.
- Дементьев А. В., Апалькова Е. Н., Субботин А. В., Попонникова Т. В. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 121.
- Добротворский А. К., Бахвалова В. Н., Ливанова Н. Н. и др. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 126.
- Дубинина Е. В., Алексеев А. Н. // Мед. паразитол. 1999. 2. С. 13.
- Дунаева Т. Н. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина. М., 1972. С. 88.
- Ефремова Г. А., Мишаева Н. П., Азарова И. А. // Проблемы природной очаговости. СПб., 1999. С. 71.
- Жмаева З. М., Пчелкина А. А. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина. М., 1972. С. 123.
- Жукова Н. Г., Команденко Н. И., Подоплека Л. Е. // Клещевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика, лечение). СТТ. Томск, 255 с.
- Жмаева З. М., Пчелкина А. А., Бердыев А. Б. // Мед. паразитол. 1969. № 3. С. 405.
- Заломаев Я. Ф., Иерусалимский А. П., Щеглова Е. Е., Рубцова В. П. // Природноочаговые антропоозоозы. Омск, 1976. С. 162.
- Захарычева Т. А., Сидельников Ю. Н., Шиповалов Е. В. // Актуальные аспекты природноочаговых болезней. Омск, 2001. С. 64.
- Злобин В. И., Борисов В. А., Верховина М. М. и др. // Клещевой энцефалит в Восточной Сибири. Иркутск, 2002. 183 с.
- Килевой Л. Я., Косарева А. Я., Смирнова Н. Н. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 146.
- Киселева Т. С. // Тезисы докладов к областной научно-практической конференции по клещевому энцефалиту. Пермь, 1967. С. 42.
- Козлов Л. Б., Мефодьев В. В., Огуцов А. А. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 159.
- Колчанова Л. П. // Мед. паразитол. 1997. № 1. С. 49.
- Кондрашова З. Н. // Труды Дальневосточн. научн. центра; Биологический институт АН СССР. 1974. Т. 21 (124). С. 42.
- Конькова-Рейдман А. Б., Злобин В. И., Тарасов В. Н. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2010. № 5 (54). С. 24.
- Коренберг Э. И. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 13.
- Коренберг Э. И. // Паразитология. 1999. Т. 32, № 4. С. 273.
- Коренберг Э. И. // Проблемы биомедицины на рубеже XXI века. РАЕН. М., 2000. С. 116.
- Коренберг Э. И. // Вестник РАМН. 2001. № 11. С. 41.
- Коренберг Э. И. // Клещевой энцефалит (к 65-летию открытия). Владивосток. 2002. С. 109.
- Коренберг Э. И. // Вестник РАЕН. 2002а. № 3. С. 19.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, № 5. С. 475.
- Коренберг Э. И. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003а. 2 (9). С. 32.
- Коренберг Э. И. // Материалы IV Всеросс. Съезда Паразитол. об-ва РАН. СПб., 2008. Т. 2. С. 59.
- Коренберг Э. И., Ананьина Ю. В., Горелова Н. Б. и др. // ЖМЭИ. 2011. № 5. С. 27.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. и др. // Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Пермь, 2007, 67 с.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Ковалевский Ю. В. // Паразитология. 2002. Т. 36, № 3. С. 177.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Постик Д. и др. // ЖМЭИ. 1997. № 6. С. 36.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузнецова Р. И. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 1. С. 45.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Ковалевский Ю. В. // Вестник АМН СССР. 1990. № 6. С. 52.
- Коренберг Э. И., Кузнецова Р. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Мед. паразитол. 1991. № 3. С. 14.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Горелова Н. Б. и др. // Вестник РАМН. 2011. № 10. С. 10.
- Коренберг Э. И., Пчелкина А. А., Солощенко И. З., Дунаева Т. Н. // Зоол. журн. 1975. Т. 54, вып. 7. С. 1057.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Баннова Г. Г. и др. // Паразитология. 1990а. Т. 24, № 1. С. 102.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Крючечников В. Н. // Мед. паразитол. 1987. № 2. С. 71.
- Коренберг Э. И., Яфаев Р. Х. // Эпидемиология. Медицина. М. 1989. С. 359.

- Кощевец Е. С., Лепехин А. В., Серебров В. Ю. и др. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 124.
- Кравчук Л. Н. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 99.
- Лайковская Е. Э., Лесняк О. М. // Лайм-боррелиоз. Екатеринбург, 1999. С. 185.
- Лайковская Е. Э., Лесняк О. М., Волкова Л. И. и др. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 93.
- Леонова Г. Н., Якушева С. С., Иванис В. А. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 179.
- Лепехин А. В., Жарова Н. В., Лукашова Л. В. и др. // Природно-очаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 94.
- Лепехин А. В., Лукашова Л. В., Портнягина Е. В., Кощевец Е. С. // Проблемы клещевых и паразитарных заболеваний. СПб., 2000. С. 4
- Лесняк О. М., Амосов М. Л. // Лайм-боррелиоз. Екатеринбург, 1999. С. 122.
- Лесняк О. М., Пономарев Д. Н., Волкова Л. И. и др. // Мед. паразитол. 1995. № 1. С. 7.
- Ливанова Н. Н., Добротворский А. К., Иванов И. Д. и др. // Актуальные аспекты природно-очаговых болезней. Омск, 2001. С. 107
- Литвин В. Ю., Коренберг Э. И. // Паразитология. 1999. Т. 32, вып. 3. С. 179.
- Лихачева Т. В., Коренберг Э. И., Синцова В. С. // Мед паразитол. 2003. № 3. С. 31.
- Лобзин Ю. В., Волжанин В. М., Антонов В. С. и др. // Проблема инфекции в клинической медицине. СПб., 2002. С. 186.
- Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Антыкова Л. П. и др. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 145.
- Лобзин Ю. В., Усков А. Н., Козлов С. С. // Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы). «Издательство фолиант». СПб., 2000а. 156 с.
- Лукашова Л. В., Лепехин А. В., Чернышова Н. П. и др. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 148.
- Мебель Б. Д., Бейтришвили Г. А., Живич М. Б. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 3. С. 30.
- Мерзлова Н. Б., Самаров М. Н. // Мед. паразитол. 2012. № 2. С. 23.
- Мухачева Т. А., Ковалев С. Ю. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 105.
- Нецкий Г. И., Равдоникас О. В., Трон И. Е. и др. // Тез. докл. межобл. научно-практ. конф. по природноочаговым инфекциям. Тюмень, 1961. С. 94.
- Нецкий Г. И., Шайман М. С. // Материалы итог. научн. конф. по природноочаговым болезням. Тюмень, 1963. С. 5.
- Нецкий Г. И., Шайман М. С. // Мед. паразитол. 1964. № 2. С. 136.
- Павловский Е. Н. // Природа. 1934. № 1. С. 80.
- Падалян Л. О., Кравчук Л. Н., Беляева И. А. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 86.
- Панюшкина И. И., Старостина О. Ю. // Национальные приоритеты России. 2009. № 2. С. 148.
- Пеньевская Н. А., Рудакова С. А., Рудаков Н. В. и др. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 170.
- Петрищева П. А. // Биологическое взаимоотношение между переносчиками и возбудителями болезней. Медицина. М., 1967. С. 286.
- Петрищева П. А. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина М., 1972. С. 37.
- Петрищева П. А. и Пчелкина А. А. // Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. Медицина М., 1972. С. 108.
- Попонникова Т. В., Бедарева Т. Ю., Вахрамеева Т. Н. и др. // Цитокины и воспал. 2007. Т. 6, № 4.
- Попонникова Т. В., Пиневич О. С. // Национальные приоритеты России. 2009. № 2. С. 190.
- Попонникова Т. В., Субботин А. В. // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. 2002. Т. 2, № 4. С. 95.
- Попонникова Т. В., Субботин А. В. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002а. С. 234.
- Портнягина Л. К. // Актуальные проблемы описторхоза. Томск, 1986. С. 132.
- Пчелкина А. А. Экология возбудителей Ку-лихорадки, клещевого сыпного тифа и клещевого энцефалита в сочетанных природных очагах этих инфекций. Автореф. дисс. ...докт. мед. наук. М., 1975. 45 с.
- Пчелкина А. А., Бердыев А., Жмаева З. М., Костырко И. Н. // Журн. здравоохранения Туркменистана. 1968. № 12. С. 18.
- Пчелкина А. А., Жмаева З. М. // 1967. № 3. С. 118.
- Пчелкина А. А., Жмаева З. М. и Дюйсалиева Р. Г. // ЖМЭИ. 1969. № 7. С. 92.

- Рудакова С. А. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. 2011а. Новосибирск, СО РАН. С. 214.
- Рудакова С. А., Рудаков Н. В., Токаревич Н. К. и др. // Природно-очаговые болезни человека. Омск, 2001. С.111.
- Симкин Г. Н. // Биогеоценозы таежного леса (на примере Пермской области). М., 1974. 175 с.
- Степанова К. Б. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 266.
- Степанова К. Б. // Мед. паразитол. 2003. № 4. С.59.
- Степанова К. Б. // Инфекц. болезни. 2004. Т. 2, № 1. С. 59.
- Степанова Т. Ф. // Описисторхоз. Новые взгляды на инвазионную болезнь, основы клинической реабилитации, методологию крупномасштабных оздоровительных работ. Изд. ТГУ. Тюмень, 2002а. 196 с.
- Токаревич Н. К., Стоянова Н. А., Вершинский Б. В. и др. // Проблемы клещевых и паразитарных заболеваний. СПб., 2000. С. 46.
- Удинцева В. А., Буров О. В., Кемерово З. С. и др. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 262.
- Ушаков А. В. // Экологические основы сочетанности природных очагов эндемичных паразитов в Западной Сибири. Изд. ТГУ. Тюмень, 2001. С.19.
- Федчук Т. Н., Малинина Г. А., Ертахова М. Л. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 285
- Фризен В. И., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. и др. // Мед. паразитол. 2008. № 4. С. 33.
- Хабиб О. // Русский мед. журн. 1996. № 4 (11). С. 734.
- Хабудаев В. А., Усольцева О. Н., Малов И. В. и др. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб., 2000. С. 273.
- Хазова Т. Г., Якимова Е. С., Зверева Н. Г., Замятина Е. П. // Ж. инфекц. патол. 2009. Т. 16, № 3. С. 212.
- Хазова Т. Г., Ястребов В. К. // ЖМЭИ. 2001. № 1. С. 78.
- Хазова Т. Г., Ястребов В. К. // Природноочаговые болезни человека. Омск, 2001а. С. 101.
- Хазова Т. Г., Ястребов В. К., Белова Е. А. и др. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 287.
- Хозинская Г. А. Изучение экологических и вирусологических аспектов смешанной инфекции вирусами Повассан и клещевого энцефалита иксодовых клещей, позвоночных животных и культур клеток. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М., 1986. 22 с.
- Хозинская Г. А., Погодина В. В. // Вопр. вирусол. 1982. № 4. С.107.
- Чунгушев С. П., Кочетова Г. А., Стефуткина Л. Ф., Королев М. Б. // Вирусы и вирусные инфекции человека. М., 1981. С. 94.
- Шайман М. С., Голованова А. К. // Вопр. инфекц. патологии. Омск, 1973. С. 23.
- Щитицина Н. И., Неболгина А. П., Наумова Л. М. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 322.
- Якушева С. С., Леонова Г. Н., Иванич В. А., Дадалова О. Б. // Клещевой энцефалит (к 65-летию открытия). Изд. ГУП. Владивосток, 2002. С. 120.
- Ahkee S., Ramirez J. // Scan. J. Inf. Dis. 1996. Vol. 28. P. 527.
- Alekseev A. N. // Second International Conference on Tick-Borne Pathogens at the Host — Vector Interface: a Global Perspective. Proseedings and Abstracts. South Africa. 1995. Vol. 1. P. 244.
- Alekseev A. // VII European Multicolloquium of Parasitology. Abstracts. Parma. 1996. P. 377.
- Alekseev A. N., Dubinina H. V., Rijpkema S. G. T., Souls M. // Experim. Appl. Acorol. 1999. Vol. 23 (2). P. 165.
- Alekseyev A. N., Dubinina E. V., Jushkova O. V. // Int. J. Med. Microbiol. 2004. Vol. 293 (Suppl. 37). P. 104.
- Anderson J. F., Johnson R. C., Magnarelli L. A. et al. // J. Clin. Microbiol. 1986. Vol. 23, No. 1. P. 135.
- Anderson J. F., Mintz E. D., Gadbow J. J., Magnarelli L. A. // J. Clin. Microbiol. 1991. 29. P. 2279.
- Bakken J. S., Krueth J., Tilden R. L. et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1996. Vol. 15. P. 829.
- Barton L. L., Dawson J. E., Letson G. W. et al. // J. Pediatr. Infect. Dis. 1990. Vol. 9, No. 2. P. 127.
- Baumgarten B. I., Rollinghoff M., and Bogdan C. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 11. P. 3448.
- Belongia E. A. Implications of co-infections. // IX International Conference on Lyme Borreliosis and Other Tick-borne Diseases. 2002. P. 131.
- Belongia E. A., Reed K. D., Mitchell P. D. et al. // Clin. Infect. Dis. 1999. Vol. 29. P.1472.
- Belongia E. A., Reed K. D., Mitchell P. D. et al. // Clin. Infect Dis 2001. Vol. 32. P. 1434.
- Benach J. L., Coleman J. L., Habicht G. S. et al. // J. Infect. Dis. 1985. Vol. 152. P. 473.
- Boerlin P., Peter O., Bretz A.-G. et al. // Infect. Immun. 1992. Vol. 60, No. 4. P. 1677.
- Chang Y. F., Novoselov, Chang C. F. et al. // J. Vet. Diagn. Invest. 1998. Vol. 10. P. 56.

- Childs J.E. and Strle F. // Clin. Inf. Dis. 2001. Vol. 33. P. 503.
- Christova I., Schouls L., van de Pol J. et al. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39 (11). P. 4172.
- Cimperman J., Maraspin V., Lotric-Furlan S. // Infection. 1998. Vol. 26, No. 3. P. 160.
- Cimperman J., Maraspin V., Lotric-Furlan S. et al. // Wien. Klin. Wochschr. 2002. 114/13–14. P. 620.
- Cinco M., Padovan D., Murgia R. et al. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35, No. 12. P. 3365.
- Coyle P.K., Laft B.J. // Current Opinion in Infections Diseases. 1995. Vol. 8. P. 444.
- Danielova V., Daniel M., Schvarzova L. et al. // VBZD. 2010. Vol. 10, No. 10. P. 223.
- Davies C.R., Jones L.D. and Nuttal P.A. // J. General Virology. 1989. Vol. 70. P. 2461.
- Demaerschallck I., Messaoud B., De Kesel M et al. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33. P. 602.
- Diehl P., Rehacek J. and Bazlikova M. // New Aspects in Ecology of Arboviruses. Smolenice. 1980. P.265.
- Dumler J.S., Dotevall L., Gustafson R., Granstrom M. // J. Infect. Dis. 1997. Vol. 175. P. 720.
- Fingerle V., Goodman J.L., Johnson R.C. et al. // Symposium on the Pathogenesis and Management of Tick-Borne Diseases. Abstracts. Vienna. 1998. P. 19.
- Fish D., Vignes F.D., Schwartz I., Coughlin R. T. // Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами. Иркутск. 1996. С. 72.
- Friedhoff K. // Intern. J. Parasitol. 1990. Vol. 20, No. 6. P.525.
- Gerber M.A., Krause P.J., Badon S.J., Carter M.L. // V Intern. Conf. Lyme Borreliosis. Abstracts. 1992. Arlington. P. A62.
- Goodman J.L., Nelson C., Vitale B. et al. // N. Engl. J. Med. 1996. Vol. 334. P. 209.
- Grunwald E., Barbour A. G., Benach J.L. // N. Engl. J. Med. 1983. Vol. 308. P.1166.
- Heimer R., Tisdale D. and Dawson J.E. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998. Vol. 58. P. 812.
- Hilton E., DeVoti J., Benach J.L. et al. // Am. J. Med. 1999. Vol. 106. P. 404.
- Hofmister E., Kolbert C.P., Abdulkarim K.S. // J. Inf. Dis. 1998. Vol. 177. P.409.
- Hoogstraal H. // Adv. Parasitol. 1985. Vol. 24. P.135.
- Hulinska D., Votypka J // Microbiologica. 2002. Vol. 25 (4). P. 437.
- Humair P.-F., Gern L. // Acta Tropica. 1998. Vol. 69. P. 213.
- Humair P.-F., Peter O. Wallich R. and Gern L. // J. Med. Entomol. 1995. Vol. 32, No. 4. P. 433.
- Humair P.-F., Postic D., Wallich R., and Gern L. // Zbl. Bacteriol. 1998. Vol. 287. P.521.
- Jadin J., Giroud P. // J. Protozool. Spec. publ. 1981. P. 132.
- Johnson R.C., Goodman J., Engstrom S.M. et al. //Международная научная конференция «Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами». Тезисы докладов. Иркутск. 1996. С. 71.
- Junttila J., Peltomaa M., Soini H. et al. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37 (5). P. 1361.
- Kardatzke J. T., Neidhardt K., Dzuban D.P. et al. // J. Med. Entomol. 1992. Vol. 29. P. 669.
- Kirstein F., Rijpkema S., Molkenboer M. and Gray J.S. // Europ. J. Epidemiol. 1997. Vol. 13. P. 67.
- Korenberg E.I. // Parasitology Today. 1994. Vol. 10. No. 4. P.157.
- Korenberg E.I. // Inter. J. Med. Microbiol. 2003. Vol. 293, Suppl. 37. P. 80.
- Korenberg E.I., Gorban L. Ya., Kovalevskii Yu. V. et al. // EID. 2001. Vol. 7, No. 3. P.
- Korenberg E.I., Gorelova N.B., Kovalevskii Yu. V. // Lyme Borreliosis Biology, Epidemiology and Control. CABI Publishing. Trowbridge. 2002. P. 175.
- Korenberg E.I., Kovalevskii Yu.V., Karavanov A. S. and Moskvitina G. G. // Med. Vet. Entomol. 1999. No. 13. P. 204.
- Korenberg E.I., Kryuchevnikov V.N., Ananyina Yu.V., Chernukha Yu.G. // Zbl. Bact. Hyg. 1986. A 263. P. 471.
- Korenberg E., Nefedova V., Kovalevskii Yu. and Gorelova N. // Trends in Acarology. Proceedings of the 12th International Congress. Springer. 2010. P. 533.
- Krause P., McKay K., Thompson C.A. et al. // Clin. Infect. Dis. 2002. Vol. 34. P. 1184.
- Krause P.J., Telford III S.R., Spielman A. et al. // JAMA. 1996. Vol. 275. No. 21. P. 1657.
- Kristoferitsch W., Stanek G., Kunz Ch. // Dtsch. Med. Wochenschr. 1986. Vol. 111. P. 861.
- Kurtenbach K., Peacey M., Rijpkema S. at al. // Appl. Environ. Microbiol. 1998. Vol. 64, No. 4. P. 1169.
- Leuba-Garcia S., Kramer M.D., Wallich R., and Gern L. // Zbl. Bacteriol. 1994. Vol. 280. P. 468.
- Leutenegger C.M., Pusterla N., Mislin C.N. et al. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37, No. 10. P. 3390.
- Levin A.E. and Talaska Th.W. // Zent. Bl. Bacteriol. 1999. Vol. 289. P. 768.
- Levin M.L. and Fish D. // Infect. Immunity. 2000. Vol. 68, No. 4. P. 2183.

- Levin M. L. and Fish D. // VBZD. 2001. Vol. 1, No. 2. P. 139.
- Levin M. L., des Vignes F., and Fish D. // EID. 1999. Vol. 5, No.2. P. 204.
- Libikova H., Rehacek J. and Rajcani J. // Čs. Epidemiol., Microbiol., Immunol. 1974. Vol. 23. P. 332.
- Magnarelli L., Anderson J. F., Stafford III K.S. and Dumler J. S. // J. Wild. Dis. 1997. Vol. 33., No. 3. P. 466.
- Magnarelli L., Andreadis T. G., Stafford III K.S., and Holland C. J. // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29, No. 12. P. 2798.
- Marcus L. C., Steere A. C., Duray et al. // Ann. Int. Med. 1985. Vol. 103. P. 3746.
- Martino S. J., Carlyon J. A., Fikrig E. // N. Engl. J. Med. 2001. Vol. 345, №No.2. P. 150.
- Masuzawa T., Khaitonenkov I., Okamoto Y. et al. // J. Med. Microbiol. 2008. Vol. 57. P. 986.
- Mather T.N., Telford III S.R., Moore S. I. and Spielman A. // Experimental Parasitol. 1990. Vol. 70. P. 55.
- Mazzella F.M., Roman A., Perez A. // Conn. Med. 1996. Vol. 60. P. 515.
- Mietze A., Strube C., Beyerbach M et al. // Clin. Microbiol. Infect. 2011. Vol. 17 (6).
- Mitchell P.D., Reed K. D., and Hofkes J.M. // J. Clin. Microbiol. 1996. Vol. 34, No. 3. P. 724.
- Morozova O. V., Dobrotvorskyy A. K., Livanova N.N. et al. // J. Clin. Microbiol. 2002. Vol. 40, No. 10. P. 3802.
- Nadelman R. B., Horowitz H. W., Hsieh T. et al. // N. Egl. J. Med. 1997. Vol. 337. P. 27.
- Pancholi P., Kolbert C. P., Mitchell P.D. et al. // J. Infect. Dis. 1995. Vol. 172. P. 1007.
- Paparone P. W., Glenn W. B. // J. Am. Osteopath. Assoc. 1994. Vol. 94. P. 568.
- Parker R. R. and Steinhaus E. A. // Pub. Health Repts. 1943. Vol. 58. P. 1910.
- Persing D. H., Conrad P.A. // Infect. Agents Dis. 1995. No. 4. P. 182.
- Pichon B., Godfroid E., Bernard H. et al. // EID. 1995. Vol. 1, No. 3. P. 89.
- Piesman J., Hicks T., Sinsky R., and Obiri G. // J. Clin. Microbiol. 1987. Vol. 25. P. 2012.
- Piesman J., Mather T.N., Donahue J. G. et al. // Acta Tropica. 1986. Vol. 43. P. 263.
- Piesman J., Mather T.N., Telford S. R. and Spielman A. // J. Clin. Microbiol. 1986a. Vol. 24. P. 446.
- Popov V. L., Korenberg E. I., Nefedova V. V. et al. // VBZD. 2007. Vol. 7, No. 4 P. 699.
- Postic D., Korenberg E., Gorelova N. et al. // Res. Microbiol. 1997. Vol. 148. P. 691.
- Ravyn M. D., Goodman J. L., Kodner C. B. et al. // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36. P. 1480.
- Rehaček J., Kovacova E., Ciampor F. et al. // Acta Virol. 1987. Vol. 30. P. 65.
- Rijkema S. and Bruinink H. // Experiment. Appl. Acarol. 1996. Vol. 20. P. 381.
- Rijkema S. G. T., Herbes R. G., Kruijff V.-D., and Schellekens J. F.P. // Epidemiol. Infect. 1996. Vol. 117. P. 563.
- Rijkema S. G. T., Golubic D., Molkenboer M. et al. // Experiment. Appl. Acarology. 1996a. Vol. 20. P. 23.
- Rijkema S. G. T., Tazelaar D. J., Molkenboer M. J.C.H. et al. // Clin. Microbiol. Infect. 1997. Vol. 3, No. 1. P. 109. *dos*
- Santos C. C., Kain K. C. // Can. Med. Assoc. J. 1999. Vol. 160. P. 1851.
- Schouls L., Van De Pol I., Rijkema S. G., Schot C. G. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. P. 2215.
- Schwartz I. D., Fish D. and Daniels T.J. // N. Engl. J. Med. 1997. Vol. 337. P. 49.
- Solberg V. B., Olson J. G., Burge J. R. et al. // J. Vector Ecol. 1996. Vol. 21, No. 1. P. 81.
- Stafford III K. C. C., Massung R. F., Magnarelli L. A. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. No. 9. P. 2887.
- Stanczak J., Kubica-Biernat B., Racewicz M. // Int. J. Med. Microbiol. 2000. Vol. 290, No. 6. P. 559.
- Stromdahl E. Y., Evans S. R. // J. Med. Entomol. 2001. Vol. 38, No. 1. P. 67.
- Sumner J., Childs J. E., and Strle F. // Clin. Inf. Dis. 2001. Vol. 33 (4). P. 503.
- Swanson S. J., Neitzel D., Reed K. D. and *Belongia* E. A. // Clin. Microbiol. ReVol. 2006. Vol. 19, No. 4. P. 708.
- Telford III S.R., Копенберг Э. И., Goethert H. K. и др. // ЖМЭИ. 2002. No. 6. С. 21.
- Thomas V., Anguita J., Barthold S. W., Fikrig E. // Infect. Immun. 2001. Vol. 69. P. 3359.
- Thompson Ch., Spielman A., and Krause P. // Clin. Inf. Dis. 2001. P. 676.
- Varde S. J., Beckley J. and Schwartz I. // EID. 1998. Vol. 4, No. 3. P. 97.
- Vorobyeva N.N., Korenberg E. I., and Grigoryan Y. V. // Wien. Klin. Wochschr. 2002. 114/13–14. P. 610.
- Walker D. H. // Ann. Rev. Public Health. 1998. 19. P. 237.
- Wang T., Liang M. H., Sangha O. et al. // Clin. Infect. Dis. 2000. Vol. 31. P. 1149.
- Wong S. J., Brady G. S. and Dumler J. S. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 2198.
- Zhan L., Cao W.-C., Chu C.-Y. et al. // EID. 2009. Vol. 15, No. 12. P. 1904.
- Zeidner N. S., Burkot T. R., Massung R. et al. // JID. 2000. Vol. 182. P. 6616.
- Zeidner N., Dolan., Massung R. et al. // Parasite Immunology. 2000a. Vol. 22. P. 5818.

6. Мониторинг за состоянием природных очагов как основа эпиднадзора

Проблема, обозначенная в названии данного раздела, на протяжении ряда десятилетий остается в поле зрения исследователей в связи с ее очевидной практической значимостью. Эпидемиологический надзор — это «современная форма организации противоэпидемиологической работы, направленной на подготовку противоэпидемиологической защиты населения и успешное ее осуществление путем сбора, анализа и оценки данных обстановки, формирования целей принятия управленческих решений и их оформления, постановки задач исполнителям, организации и проверки их исполнения» (Беляков, Яфаев, 1989, С. 402). «Эпидемиологический словарь» трактует термин «надзор (surveillance)» как «систематический непрерывный сбор, сопоставление и анализ данных и своевременное распространение информации среди заинтересованных лиц с целью принятия определенных мер. Н. — важная часть эпидемиологической практики. Н. отличается от мониторинга тем, что является продолжающимся и непрерывным процессом, в то время как мониторинг прерывается или выполняется эпизодически» (Ласт, 2009, С. 138). Слова об отличии «надзора» от «мониторинга», продиктованные, по всей видимости, периодичностью эпидемиологических обострений, возникающих при антропонозах, по смыслу совершенно не подходят к природноочаговым зоонозам, которые обсуждаются далее. Из-за принципиальных отличий эпидемиологического процесса у антропонозов и природноочаговых инфекций (раздел 1.2) теоретические концепции и практические приемы даже краткосрочного прогнозирования заболеваемости при антропонозах не пригодны для разработки прогнозов эпидемиологического проявления природных очагов болезней человека (Коренберг, Юркова, 1983).

На эту тему появились публикации (Хазова, Ястребов, 2003; Ястребов, Хазова, 1997; 2012 и др.), претендующие на «оптимизацию системы эпидемиологического надзора...», в которых полностью проигнорирован накопленный опыт и, говоря образно, «жизнь начинается с чистого листа» даже в тех случаях, когда речь идет о давно и хорошо методически отработанных и практически апробированных приемах. Вопрос о том, что конкретно и какими методами необходимо и доста-

точно делать для осуществления рационального эпиднадзора за природноочаговыми инфекциями, возбудители которых передаются иксодовыми клещами, сегодня выглядит даже менее научно обоснованным, чем это было ряд десятилетий назад. Тем не менее хотелось бы, чтобы этот небольшой раздел напомнил о тех положениях и методах, которые отнюдь не утратили своего смысла.

Основная цель эпидемиологического надзора за природноочаговыми инфекциями — прогнозирование возможных показателей эпидемического проявления природных очагов и их изменений во времени и пространстве для своевременного осуществления мер профилактики (Коренберг, 2002). Эти показатели определяются главным образом интенсивностью эпизоотического процесса (лоймопотенциалом очага) и частотой контакта населения с природными очагами (рис. 1.2). Эпизоотические показатели изменяются в разные годы, так как представляют собой результат сложных внутрипопуляционных и биоценологических процессов, происходивших в паразитарных системах в предшествовавшие сезоны и в текущем году. Поэтому основа эпиднадзора при природно-очаговых зоонозах — мониторинг за состоянием природных очагов (Кучерук и др., 1966; Коренберг, 2002; Ястребов, Хазова, 2012). При этом применительно к трансмиссивным инфекциям, рассматриваемым в этой книге, следует исходить из того, что жизненная схема их возбудителей теснейшим образом связана с жизненными схемами иксодовых клещей — основных переносчиков и хранителей (разделы 2.4; 3.4; 4.4; 5.4).

Динамические процессы, происходящие в паразитарных системах, определяют изменения лоймопотенциала природных очагов по годам и могут быть с той или иной полнотой прослежены комплексом паразитологических, вирусологических и микробиологических методов. Такие многолетние наблюдения дают положительные результаты при условии их проведения по стандартной методике на специально подобранном участке (постоянном стационаре). Его выбирают, руководствуясь эпидпоказаниями: он должен быть частью территории (лесного массива), на которой, как правило, отмечается особенно высокая для данного субъекта РФ заболеваемость населения и частые нападения клещей на людей и домашних животных. Правильно подобранный стационар отражает наиболее характерные ландшафтные особенности этой территории и включает в себя все основные свойственные ей биотопы (наиболее распространенные типы леса, вырубки разных типов и возрастов и пр.), т.е. наиболее типичные для данного региона очаговые экосистемы. Важно, чтобы соотношение площадей различных биотопов в пределах стационара было примерно таким же, как и на всей окружающей территории, а его общая площадь составляла не менее 30 км². Кроме того, поблизости от участка леса, выбранного для стационарных наблюдений, должны находиться населенные пункты, типичные для всей угрожаемой территории по численности и профессиональному составу населения и другим социально-экономическим показателям. Если в лесу производится или производился раньше выпас скота, стационар обязательно должен охватывать лесные пастбища или их часть.

Первый этап работы — составление детального плана стационара в масштабе 1:10 000, на котором отражают границы лесов, вырубок и полей, кварталную сетку, лесотаксационные выделы, гидросеть, дороги, тропы. Для составления плана привлекают лесотаксационные карты лесничеств, планы землепользования и другие доступные материалы. Такой план используется для ориентировки на местности, а также при подготовке (планировании) различных наблюдений и сбора биоматериала.

В двух предыдущих абзацах воспроизведен (с незначительными коррективами) текст о выборе стационара из «Временной программы наблюдений за состоянием природных очагов клещевого энцефалита и методических указаний по ее выполнению» (Кучерук и др., 1966, С. 6) для региональных санитарно-эпидемиологических станций, которая была утверждена Главным санитарно-эпидемиологическим управлением МЗ РСФСР. В этом документе обозначены задачи наблюдений на стационаре, а также широкого обследования крупной административной территории, а сама «Программа наблюдений» содержит перечисление видов работ, необходимых для решения этих задач. Поскольку уже тогда силы и возможности различных санитарно-эпидемиологических станций были не одинаковы, виды работ, перечисленные в программе, были разделены на обязательные и дополнительные (желательные). Краткие методические указания касались проведения на стационаре следующих наблюдений: фенологических и метеорологических; за численностью и сезонной активностью иксодовых клещей; за численностью и размещением позвоночных животных-прокормителей клещей. Рекомендован порядок рандомизированного сбора биоматериала для вирусологических наблюдений на стационаре, а также для выявления форм и интенсивности контакта населения с природными очагами. Кроме того, в отдельном разделе описаны общие методические принципы организации и практического проведения широкого обследования территории субъекта РФ.

За истекшие годы, разумеется, очень многое изменилось. Кроме КЭ стали известны широко распространенные в стране ИКБ, ГАЧ и МЭЧ. Возникла проблема микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Существенно изменились задачи, структура, состояние кадров и возможности самой санитарно-эпидемиологической службы страны. Сейчас «урезанные» стационарные наблюдения проводятся лишь в единичных регионах. Описанный выше документ, естественно, безнадежно устарел, требует кардинального обновления и упомянут лишь как пример, показывающий, что мониторинг за состоянием природных очагов, необходимый даже для краткосрочного прогнозирования эпидемической ситуации, не может осуществляться без специальных ежегодных исследований на стационарах (Коренберг, 2008), которые должны проводиться на основе единых методических принципов и требуют материально-технического и кадрового обеспечения.

Одиннадцатилетние наблюдения в природных очагах ИКБ в горнотаежных лесах западного макросклона Урала показали, что флуктуации основных параметров боррелиозных паразитарных систем (численность мелких млекопитающих,

голодных нимф и взрослых клещей *I. persulcatus*, их зараженность боррелиями и суммарное абсолютное количество бактериальных клеток, которое содержится в этих зараженных переносчиках) однотипны. Они характеризуются трехлетней цикличностью, но имеют заметные различия в амплитуде колебаний по годам, которая наиболее четко выражена у мелких млекопитающих, суммарная численность которых варьирует не менее чем в 200 раз. Преимущественно она определяется обилием фонового вида и основного резервуарного хозяина боррелий — рыжей полевки. Ее многолетняя динамика численности в этом регионе представляет последовательное четкое чередование трех фаз: нарастание, пик, депрессия. Остальные названные выше параметры изменяются почти синхронно и «отстают» от колебаний обилия зверьков, включая землероек, на один год. Они имеют тесную корреляционную связь с численностью мелких млекопитающих в предшествующем году, и их значения на следующий сезон после пика численности зверьков всегда особенно велики. Это позволило сделать заключение о том, что обилие мелких лесных млекопитающих и фаза динамики их численности относятся к числу важнейших краткосрочных и, в определенной степени, среднесрочных прогностических факторов. Они определяют динамику паразитарных систем ИКБ, абсолютную численность инфицированных переносчиков как важнейший параметр риска заражения людей и, в конечном счете, динамику эпидемического проявления природных очагов (Гусманова и др., 2002; Ковалевский и др., 2002, 2004; Коренберг и др., 2002; Korenberg et al., 2002).

В этом отношении Западный Урал, где были проведены описанные наблюдения, принципиально отличается, например, от расположенных сравнительно недалеко южнотаежных и хвойно-широколиственных лесов равнинного Приуралья, для которых по многолетним данным характерна устойчиво высокая численность мелких млекопитающих с незначительными колебаниями по годам. Они не могут заметно влиять на численность таежных клещей (Тупикова, Коновалова, 1971; Тупикова и др., 1980; Бернштейн и др., 1987), и следовательно на динамику лоймопотенциала природных очагов инфекций, связанных с этим переносчиком (Коренберг, 1979; Ковалевский и др., 1988). В природных очагах ИКБ ряда других регионов также не наблюдается высокая степень синхронности колебаний различных параметров эпизоотического процесса (Ковалевский и др., 1993, 2004; Kovalevskii, Korenberg, 1995; Буренкова, 2000; 2012; Кисленко, Коротков, 2002; Филоненко и др., 2002; Gern et al., 2002).

В этой связи, по всей видимости, важное значение для динамики популяций боррелий имеет частота их горизонтальной передачи. Она увеличивается при сочетании высокой численности личинок и нимф основного переносчика с обилием старших возрастных групп мелких лесных млекопитающих (их хозяев), среди которых при хронически протекающих спирохетозах (Карасева, 1956; Коренберг, 1964) и, в частности, при ИКБ, бывает особенно много зараженных зверьков (Voer et al., 1993; Talleklint et al., 1993). Перезимовавшие (старые) особи резервуарных хозяев определяют общий высокий уровень обилия зараженных боррелиями мел-

ких млекопитающих в периоды пиков их численности и обеспечивают массовое инфицирование предимагинальных фаз основного переносчика (Ковалевский и др., 2004). Именно эти процессы, важные для прогнозирования эпизоотической и эпидемической ситуации, заслуживают особенно пристального внимания при организации мониторинга в природных очагах ИКБ (Коренберг, 2002).

Важные исследования, характеризующие состояние природных очагов инфекций, передающихся иксодовыми клещами, проводятся с 2000 г. в Красноярском крае. Опубликованы основные показатели, полученные в результате многолетнего мониторинга на двух стационарах: один из них расположен в подзоне южной тайги (Хазова, 2007; Хазова и др., 2010), а другой — в степной зоне Минусинской котловины (Данчук и др., 2012). Совершенно справедливо подчеркнута, что «четкие, квалифицированные, регулярно осуществляемые наблюдения на стационарах являются основой успешного прогнозирования состояния природного очага КЭ» (Хазова и др., 2010, С. 145), однако сами конкретные прогностические показатели, к выявлению которых сводится смысл многолетнего мониторинга, не сформулированы. Такая попытка сделана в другой публикации (Данчук и др., 2012, С. 45). «В частности, установлена средняя степень корреляции между показателями заболеваемости КЭ и среднесезонной численностью клещей за 15-летний период ($r=0,6$)». По этим данным, как следует из текста, с учетом изменения численности грызунов, которые определяют изменения показателей прокормления предимагинальных фаз и подъем численности взрослых клещей в следующем году, «составляются краткосрочные факторные и экстраполяционные экспертные прогнозы состояния природных очагов КЭ, ИКБ, КР и численности клещей», оправдывающиеся в 86 % случаев. Между тем, судя по приведенным в этой работе различным конкретным показателям, ситуация совсем не так однозначна. В 2003 г., например, численность грызунов была в два раза больше, чем в 2001 г. и почти в 2,5 раза больше, чем в 2007 г., а показатель прокормления нимф в 5 раз меньше, чем в 2001 г. и в 3 раза меньше, чем в 2007 г.; сумма подекадных индексов численности взрослых *I. persulcatus* в следующие сезоны после прокормления нимф (2002 и 2008 гг.) оказалась практически одинаковой. Можно было бы привести еще не одну такую «неувязку» фактических результатов наблюдений на южнотаежном и степном стационарах с их трактовкой авторами. Но дело совершенно не в критике большой и чрезвычайно важной работы, которую на протяжении многих лет, несмотря на все объективные трудности, проводят опытные энтузиасты красноярской санэпидслужбы и которая должна быть примером для других регионов. Изложенным хотелось еще раз продемонстрировать сложность популяционно-биоценотических взаимоотношений между различными компонентами паразитарных систем на очаговой территории, требующую во многих случаях серьезного многофакторного анализа многолетних данных для выявления прогностически значимых параметров. Желательно, чтобы такой анализ, прежде всего, проделали сами авторы рассмотренных публикаций, которые знают, насколько достоверна каждая полученная ими цифра.

Оценка форм и интенсивности контакта населения с природными очагами базируется на картировании по лесничествам и кварталам леса места заражения каждого заболевшего (Кучерук и др., 1969, 1969а) и информации о нем. Она должна способствовать анализу эпидемической опасности очаговой территории, планированию и оценке эффективности проведенных ранее профилактических мероприятий. Информация включает данные о наличии и дате укуса клеща, дате заболевания, о том, какую конкретно местность, где могло произойти нападение переносчика, и по какой причине посещал пациент накануне заболевания (при алиментарном заражении — место регулярного выпаса животного), с какого года проживает в данном населенном пункте, как часто посещает лес, был ли он и в какие сроки ранее вакцинирован и др. Эти сведения обычно заносят в карту эпидемиологического обследования (Кучерук и др., 1966).

Как известно, важнейший компонент эпидемиологического надзора — анализ многолетней динамики заболеваемости. Инфекциям, передающимся иксодовыми клещами, и в особенности КЭ, свойственна калейдоскопическая пестрота ежегодно меняющейся картины распределения заболеваний по территории нозоареала, сочетающаяся с периодическими (через каждые 3–5 лет) несинхронными или, точнее, не всегда синхронными подъемами заболеваемости в различных регионах, что связано с различной продолжительностью цикла развития клещей (раздел 2.4.2). Кроме того, существуют продолжительные периоды, измеряемые десятками и более лет, на протяжении которых по разным причинам отмечается сходная направленность в изменении числа случаев (раздел 2.5.4). Эти общие черты динамики заболеваемости, как в отдельных регионах, так и в пределах нозоареала, особенно четко прослеживаются по результатам анализа данных о ее регистрации по административным районам за длительный отрезок времени, охватывающий не менее 2–3 периодических циклов ее подъема и спада (Неронов, Иванова, 1965; Коренберг и др., 1990; табл. 2.8).

Прогноз заболеваемости, основанный на результатах эпиднадзора — это фундамент научной основы планирования профилактических мероприятий. Создание таких обоснованных прогнозов для различных регионов и страны в целом по природноочаговым инфекциям, и в частности по инфекциям, передающимся клещами, было и остается важнейшей научно-практической задачей, которую еще 65 лет назад поставил Е. Н. Павловский (1946).

Прогнозом называют научно обоснованное суждение о возможных состояниях объекта в будущем, о путях, сроках и условиях осуществления будущих событий. По видам прогнозы делят на поисковые и нормативные, а по степени их заблаговременности (срокам упреждения) — на оперативные, краткосрочные, среднесрочные, долгосрочные и дальнесрочные или сверхдолгосрочные (Лисичкин, 1978). Применительно к природноочаговым инфекциям эпидемическим прогнозом называют «предсказание возможности возникновения и развития эпидемического процесса на основании анализа местных особенностей циркуляции возбудителя в природном очаге, состояния социальных факторов и ха-

рактера контакта людей с природными источниками инфекции или путей заноса возбудителя» (Кучерук и Росицкий, 1984). По отношению к прогнозам инфекционной заболеваемости, как полагают некоторые эпидемиологи, исходя из степени их развития, достаточно различать краткосрочные и долгосрочные прогнозы, причем к последним отнесены такие, которые обеспечивают упреждение за год и более (Ягодинский, 1977). До сих пор большинство прогнозов не содержат количественную оценку будущей ситуации, а показывают лишь общую тенденцию изменения заболеваемости.

При прогнозировании эпидемического проявления природных очагов болезней человека объектом прогнозирования должна быть заражаемость, которую нередко ошибочно отождествляют с заболеваемостью. В первую очередь, она обусловлена существованием популяций возбудителя (природных очагов) на определенной территории. Блок-модель для прогнозирования эпидемического проявления природных очагов болезней человека приведена на рисунке 1.2. Наиболее обоснованные предположения, как уже подчеркивалось, могут быть сделаны только с учетом перспективы изменений лоймопотенциала природных очагов и интенсивности контакта населения с ними, т. е. на основе предположений о взаимодействии в будущем двух главных блоков схемы, изображенной на этом рисунке. Такие прогнозы были названы прямыми полными прогнозами эпидемического проявления природных очагов (Коренберг, 1983). Их делают до сих пор чрезвычайно редко и лишь в самой осторожной форме. Как пример можно привести прогноз по КЭ для восточной части зоны Байкало-Амурской железнодорожной магистрали (Медведева и др., 1982), авторы которого, разумеется, в те годы не могли предвидеть, что строительство будет законсервировано, а хозяйственное освоение и урбанизация территории фактически прекращены. Чем больше срок упреждения таких прогнозов, тем в большей степени следует учитывать возможные общегосударственные и региональные социально-экономические перемены, которые, несомненно, оказывают недооцениваемое мощное, и подчас «взрывное» воздействие на интенсивность контакта населения с возбудителями природноочаговых инфекций (Коренберг, 2008). Именно они были основной причиной «неожиданного» подъема заболеваемости КЭ не только в 90-е, но и в середине 60-х годов прошлого века, а резкое сокращение поголовья коз, обусловленное изменившимися социально-экономическими условиями, привело затем к тому, что многочисленные ранее алиментарные случаи КЭ довольно быстро стали редкостью (Коренберг, 2003; раздел 2.5.4).

Если прогноз делают с учетом показателей только одного из взаимодействующих блоков (рис. 1.2), он оказывается неполным. Может быть прямой неполный прогноз эпидемического проявления природных очагов по показателям лоймопотенциала или по показателям интенсивности контакта населения с очагами.

От прямых прогнозов целесообразно отличать косвенные прогнозы эпидемического проявления природных очагов, которые могут быть сделаны по состоянию отдельных компонентов паразитарной системы или по ожидаемым

изменениям социально-демографического статуса населения. К ним относятся, например, многочисленные попытки прогнозирования изменений заболеваемости КЭ по показателям динамики популяций мышевидных грызунов или клещей.

При освоении новой территории, на которой выявлено существование природных очагов, о степени ее эпидемической опасности обычно судят, прежде всего, по предстоящим изменениям численности населения, его возрастной и профессиональной структуры, по планируемой привязке населенных пунктов и их величине. Начиная с 50-х годов прошлого века, в общей (словесной) форме таких прогнозов сделано немало. Однако методические принципы прогнозирования эпидемического проявления природных очагов на вновь осваиваемых территориях в сущности не разработаны до сих пор. К косвенным, очевидно, могут быть отнесены прогнозы эпидемической ситуации, основанные на картографическом (или ином) анализе ландшафтных предпосылок распространения природных очагов болезней или компонентов паразитарных систем. Нередко в них в той или иной мере учитывают и социальную обстановку.

Рассмотренные варианты практически исчерпывают то направление прогнозирования, которое может быть названо эпидемиологическим, причем предсказательная точность, и следовательно значимость прямых и косвенных прогнозов, естественно, совершенно различна.

Цель эпизоотологического прогноза — «предсказание возможности возникновения и характера развития эпизоотического процесса на тот или иной отрезок времени, построенное на основе анализа особенностей природных очагов, состояния и динамики эпизоотических факторов» (Кучерук и Росицкий, 1984). Его основу составляют популяционно-экологические прогнозы возможного состояния в будущем популяций главных резервуарных хозяев, переносчиков и самого возбудителя. Эпизоотологический прогноз — важный источник информации для подготовки эпидемиологического прогноза по природноочаговым зоонозам. Второй важнейший источник информации, как следует из изложенного выше, — социально-демографический прогноз, который строится по своим особым показателям и принципам (Бахметова и др., 1982), выполненный специально для целей прогнозирования эпидемического проявления природных очагов.

В завершение этого раздела представляется важным отметить, что любой прогноз — это лишь предположение, а прогностика в целом основывается на вероятностных подходах. Данные, накопленные в результате мониторинга, во многих случаях позволяют судить о практически известном и теоретически возможном размахе колебаний лоймопотенциала природных очагов в определенном регионе. Эти колебания не беспредельны и, по всей видимости, для каждой инфекции существует определенный, свойственный ей диапазон возможных значений. Оценка многолетних показателей заболеваемости зоонозами также свидетельствует о том, что каждая инфекция может иметь определенные пределы интенсивности эпидемического проявления, которые зависят от особенностей эпидемического процесса, что, в частности, показано на примере КЭ (Коренберг и др., 1986).

6.1. Литература

- Бахметова Г. Ш. // Методы демографического прогнозирования. Мысль. М., 1982. 110 с.
- Беляков В. Д., Яфаев Р. Х. // Эпидемиология. Медицина. М., 1989. 416 с.
- Бернштейн А. Д., Алекина Н. С., Копылова Л. Ф. и др. // Зоол. журн. 1987. Т. 66, вып. 9. С. 1397.
- Буренкова Л. А. // Дез. дело. 2000. № 2. С. 14.
- Буренкова Л. А. // Мед. паразитол. 2012. № 4. С. 30.
- Верета Л. А. // Принципы прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом. Медицина. М., 1975. 135 с.
- Данчук Г. М., Хазова Т. Г., Зверева Н. Г. // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2012. № 2. С. 42.
- Гусманова А. Г., Альпова И. И., Десятков М. Ю. и др. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 115.
- Карасева Е. В. // Зоол. журн. 1956. Т. 35, № 9. С. 1384.
- Кисленко Г. С., Коротков Ю. С. // Паразитология. 2002. Т. 36, вып. 6. С. 447.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Паразитология. 2004. Т. 38, вып. 2. С. 105.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Нефедова В. В. // Клещевые боррелиозы. Ижевск, 2002. С. 149.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Лев М. И. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 3. С. 22.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Левин М. Л. // Проблемы клещевых боррелиозов. М., 1993. С. 137.
- Коренберг Э. И. // ЖМЭИ. 1964. № 5. С. 87.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1979. Т. 58, вып. 4. С. 542.
- Коренберг Э. И. // Что такое природный очаг. Знание. М., 1983. 58 с.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. М., 2002. Т. 2. С. 49.
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 2008. № 3. С. 3.
- Коренберг Э. И. // Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина. М., 2003. С. 387.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Ковалевский Ю. В. // Паразитология. 2002. Т. 36, вып. 3. С. 177.
- Коренберг Э. И., Иванова Л. М., Неуронов А. М. // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики клещевого энцефалита. Иркутск, 1990. С. 69.
- Коренберг Э. И., Иванова Л. М., Юркова Е. В. // Мед. паразитол. 1986. № 2. С. 35.
- Коренберг Э. И., Юркова Е. В. // Мед. паразитол. 1983. Т. 61, № 3. С. 3.
- Кучерук В. В., Коренберг Э. И., Земская А. А. // Временная программа наблюдений за состоянием природных очагов клещевого энцефалита и методические указания по ее выполнению. (Для областных, краевых и республиканских санитарно-эпидемиологических станций). МЗ РСФСР. М., 1966. 23 с.
- Кучерук В. В., Коренберг Э. И., Шулепова Т. Г. и др. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 15.
- Кучерук В. В., Росицкий Б. // Мед. паразитол. 1984. № 2. С. 7.
- Кучерук В. В., Шулепова Т. Г., Панфилова С. С. и др. // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969а. С. 281.
- Ласт Д. М. (ред.) // Эпидемиологический словарь. Глобус. М., 2009. 316 с.
- Лисичкин В. А. // Теория и практика прогностики. Терминология. М., 1978. 96 с.
- Медведева Г. И., Коренберг Э. И., Васильева В. И. // Мед. паразитол. 1982. № 5. С. 71.
- Неронов В. М., Иванова Л. М. // Методы медико-географических исследований. М., 1965. С. 149.
- Павловский Е. Н. // Ж. общей биол. 1946. № 1. С. 3.
- Тупикова Н. В., Коновалова Э. А. // Фауна и экология грызунов. Изд. МГУ. М., 1971. Вып. 10. С. 145.

- Тупикова Н. В., Суворова Л. Г., Коренберг Э. И. // Фауна и экология грызунов. Изд. МГУ. М., 1980. Вып. 14. С. 158.
- Филоненко И. В., Рыбакова Н. А., Кузнецов Г. Г. // Паразитология. 2002. Т. 36, вып. 1. С. 26.
- Хазова Т. Г. // Бюлл. Сиб. отдел. РАМН. 2007. № 4. С. 94.
- Хазова Т. Г., Якимова Е. С., Белова Е. А., Данчук Г. М. // Журн. Инфекц. патол. 2010. Т. 17, № 3. С. 144
- Хазова Т. Г., Ястребов В. К. // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2003. № 4. С. 15.
- Ягодинский В. Н. // Динамика эпидемического процесса. Медицина. М., 1977. 240 с.
- Ястребов В. К., Хазова Т. Г. // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 1997. № 3. С. 17.
- Ястребов В. К., Хазова Т. Г. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2012. № 1. С. 19.
- Boer B. de, Novius K. E., Noblmans M. K. E., Gray J. S. // Zbl. Bact. 1993. P. 404.
- Gern L., Perret J.-L., Guigoz E. et al. // Int. J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 291. Suppl. 33. P. 21.
- Kovalevskii Yu. V., Korenberg E. I. // Experimental and Applied Acarology. 1995. Vol. 19. P. 19.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. V., Gorelova N. B. // Experimental and Applied Acarology. 2002. Vol. 28. P. 225.
- Talleklint L., Jeanson T. G. T., Mather T. N. // J. Med. Entomol. 1993. Vol. 30. P. 812.

7. Лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами

7.1. Цель и задачи лабораторной диагностики

Лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами, традиционно базируется на использовании клинико-эпидемиологических данных, позволяющих установить риск заражения пациента в эндемичном регионе, и комплекса лабораторных методов, предназначенных для подтверждения клинического диагноза.

Оценка риска заболевания клещевым энцефалитом (КЭ), иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ), гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ), моноцитарным эрлихиозом человека (МЭЧ) включает определение наличия факторов риска (см. рис. 5.5) и выявление опорных симптомокомплексов (раздел 5.7) с учетом особенностей эпидемиологии и патогенеза этих заболеваний (разделы 2–4), в том числе при смешанной инфекции (раздел 5). Результативность применения различных лабораторных методов отражена в работах многих отечественных и зарубежных авторов, в том числе обзорного и методического характера, ссылки на которые будут приведены по ходу изложения раздела 7.

Накопленные к настоящему времени сведения о состоянии и проблемах лабораторной диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ обобщены в разделах 7.2–7.4. Основное внимание уделено оценке эффективности диагностических методов, которые используются в российских клинико-диагностических лабораториях (КДЛ) и за рубежом для исследования проб биологических жидкостей, экскретов или тканей человека при проведении лабораторной диагностики указанных заболеваний.

Основная цель в применении лабораторных методов, как известно, состоит в том, чтобы обеспечить набор объективных измерений, которые позволят установить наличие и оценить уровень специфических маркеров заболеваний и таким образом подтвердить клинико-эпидемиологические данные о предполагаемой этиологии болезни. Решаемые при лабораторном исследовании задачи

включают: установление остроты и длительности болезни, разграничение между первичной и предшествующей инфекцией, проведение дифференциальной диагностики передаваемых клещами инфекций, в том числе смешанных, от других лихорадочных заболеваний, возникших в период сезонной активности клещей-переносчиков, а также контроль эффективности лечения.

Однако применение даже самых чувствительных и специфичных методов не всегда обеспечивает возможность однозначной интерпретации результатов (разделы 7.1.1, 7.3.5). Для повышения эффективности лабораторного исследования используют комплекс методов, предназначенных для прямой детекции возбудителя и его компонентов (культивирование, микроскопия, методы на основе полимеразной цепной реакции) и для регистрации иммунологической реакции организма на инфекцию (выявление специфических антител методами иммуноферментного анализа, непрямой иммунофлуоресценции, иммуноблота). Их применение в «правильные» периоды заболевания служит неоценимым источником информации для решения задач, необходимых для подтверждения клинического диагноза (см. раздел 7.1.2).

Успех лабораторной диагностики в значительной степени зависит от применения стандартизованных методов, обеспечивающих выявление маркеров заболевания с высокими показателями аналитической надежности (точность, чувствительность, специфичность) и клинической информативности. Подходы к стандартизации процесса лабораторной диагностики проанализированы в разделе 7.1.3.

Новые перспективные методы, которые уже в ближайшем будущем могут быть включены в арсенал средств лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, рассмотрены в разделе 7.5.

7.1.1. Проблемы лабораторной диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ

Проблемы, возникающие при лабораторной диагностике КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ, могут быть обусловлены целым рядом объективных факторов (клинических, биологических, иммунологических), а также свойствами самих диагностических тестов и процедуры исследования в целом.

Так, клещевой энцефалит, иксодовые клещевые боррелиозы, эрлихиозы характеризуются выраженным полиморфизмом клинических проявлений и имеют множество сходных с другими заболеваниями признаков и симптомов (см. разделы 2.6, 3.6, 4.6), которые могут изменяться в ходе болезни и особенно в случае микст-инфицирования (см. раздел 5.7). Существование инаппарантных (бессимптомных) и стертых форм КЭ (раздел 2.6), латентных (субклинических) и безэритемных форм ИКБ (раздел 3.6), отсутствие специфики в клинической манифестации эрлихиозов (раздел 4.6), возможность возникновения клинических проявлений ИКБ в любой последовательности и комбинации как на ранних, так и на более поздних сроках заболевания (Воробьева, 1998; DBG Guidelines, 2010; Stanek et al., 2012; раздел 3.6) — все эти факторы затрудняют постановку клинического диагноза, особенно на ран-

них сроках после инфицирования, и требуют обязательного подтверждения предполагаемой этиологии заболевания лабораторными методами.

Высокая антигенная и генетическая гетерогенность возбудителей (раздел 2.2.2, 3.2.2), наличие перекрестной реактивности между антигеннородственными флавирусами (Roehrig, 2003; Stiasny et al., 2006; Mansfield et al., 2011) или бактериями (Nicholson et al., 1997; Fenollar et al., 2007), взаимодействие с неспецифическими компонентами микробной клетки, например, белками теплового шока (Coleman, Benach, 1987; Hansen et al., 1988a, б; Tajima et al., 2000), возможность длительной персистенции IgM антител при флавирусных инфекциях (Иерусалимский, 2001; Niedrig et al., 2001; Holzmann, 2003; Mansfield et al., 2011) и заболеваниях группы болезни Лайма (CDC, 1995; Kalish et al., 2001), возможность развития смешанной инфекции при микст-инфицировании (раздел 5.7) — все эти факторы оказывают значительное влияние на специфичность диагностического тестирования и должны учитываться при интерпретации результатов лабораторного исследования.

Нетипичное развитие иммунного ответа при заболеваниях, передающихся иксодовыми клещами, может быть обусловлено наличием предшествующего гуморального иммунитета, сформировавшегося до начала болезни (Кветкова, 2004; разделы 2.7; 3.5.2, 4.5, 7.3.4), поздним появлением детектируемого иммунного ответа (раздел 7.3.4), наличием серонегативных форм (Погодина и др., 1986, 1992; Gritsun et al., 2003; и др.), угнетением функций иммунной системы некоторыми лечебными препаратами, введением гамма-глобулина с профилактической или лечебной целью, ослаблением общего состояния организма предшествующими или хроническими заболеваниями (Левкович и др., 1967; Иерусалимский, 2001; Кветкова, 2004; Kaiser, Holzmann, 2000; Kleiter et al., 2007; Strle, Stanek, 2009) или ранним началом антибиотикотерапии (Shrestha et al., 1985; Dattwyler et al., 1988; Berardi et al., 1988; Ismail et al., 2010). Эти (и другие) факторы влияют, прежде всего, на чувствительность иммуноанализа и должны быть приняты во внимание при выборе адекватных методов исследований, их применении в оптимальные сроки после начала болезни, а также при интерпретации результатов.

При проведении лабораторной диагностики возможно получение как ложноположительных (гипердиагностика), так и ложноотрицательных (гиподиагностика) результатов. Помимо перечисленных выше объективных факторов, оказывающих влияние на показатели чувствительности и специфичности диагностических тестов, ошибки могут возникать на любом этапе лабораторного исследования. Важным источником их снижения является использование стандартизованных методов и стандартизация процедуры лабораторного исследования в целом (раздел 7.1.3).

7.1.2. Стратегия исследований

При подтверждающей лабораторной диагностике клещевого энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов, анаплазмоза и эрлихиоза стратегия исследований состоит в следующем.

Поскольку не существует универсального специфического биомаркера, выявление которого лабораторными методами могло бы полностью подтвердить этиологию различных проявлений передающихся иксодовыми клещами инфекций, желательно использовать комплекс методов, предназначенных для прямого обнаружения возбудителя, его антигенов и/или нуклеиновой кислоты и установления иммунологической реакции организма на контакт с возбудителем (выявление антител серологическими методами).

Серологические методы являются основными при подтверждающей диагностике КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ. Методы выявления специфических антител необходимо применять в острой стадии заболевания и в стадии реконвалесценции (серологическое исследование парных проб крови) для установления факта появления антител и нарастания их титров. Выявление не менее чем 4-х кратного нарастания титров антител свидетельствует о протекании активной инфекции.

Методы прямого обнаружения возбудителей и/или их компонентов рассматриваются как дополнительные к серологии тесты. Их применяют при неоднозначных или отрицательных результатах серологического тестирования, в основном на ранних стадиях заболевания (до введения специфического противоклещевого иммуноглобулина или до начала проведения антибиотикотерапии).

Все этапы лабораторного обследования пациента на КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ, осуществляемые в КДЛ, безусловно, должны быть регламентированы нормативными документами Минздрава России. Однако по разным причинам уровень разработки таких документов в отношении каждой из рассматриваемых инфекций различен. Так, методические указания для лабораторной диагностики *клещевого энцефалита* существуют с 1990 г. (МУ, 1990), а их обновленная версия появилась в 2008 г. (СП 3.1.3.2352–08). В основе проведения лабораторной диагностики *иксодовых клещевых боррелиозов* лежит использование методических указаний МЗ СССР, разработанных еще в 1991 г. (МУ, 1991); безусловно, эти документы требуют уточнения с учетом современного уровня развития диагностических технологий. Методические указания по проведению лабораторной диагностики *ГАЧ и МЭЧ* в нашей стране пока вообще не разработаны, поэтому для проведения диагностического тестирования и интерпретации его результатов лабораторные работники используют рекомендации производителей тест-систем.

Стратегия лабораторной диагностики рассматриваемых инфекций в странах Европы (не всех) и Северной Америки регламентируется рядом нормативных документов, разработанных за последние почти 20 лет (CDC, 1995, 1997, 2006; Wilske et al., 2000; Brouqui et al., 2004; DBG Guidelines, 2010). Наибольшие различия по сравнению с описанной выше стратегией исследований наблюдаются в отношении лабораторной диагностики ИКБ (CDC, 1995, 1997; Wilske et al., 2000). За рубежом рекомендуют использование процедуры двухступенчатого тестирования с последовательным применением методов иммуноферментного анализа (или непрямой реакции иммунофлуоресценции) и подтверждающего иммуноблота; при этом исследованию подвергают сыворотку крови, взятую у пациента однократно,

тогда как исследование парных сывороток рекомендовано только при серонегативном результате анализа первой пробы при высокой вероятности заболевания (Stanek et al., 2012; и др.). В настоящее время применение двухступенчатого подхода подвергается критике многими специалистами (см. раздел 7.3.4).

7.1.3. Стандартизация исследований

Успех лабораторной диагностики в значительной степени зависит от стандартизации всех этапов лабораторного исследования: преаналитического (подготовка пациента к обследованию, взятие пробы, ее транспортировка и хранение, подготовка пробы к исследованию и т.п.), аналитического (анализ биологических материалов с помощью лабораторных тестов) и постаналитического (интерпретация результатов исследования, постановка клинического диагноза, определение тактики лечения и/или плана диспансерного наблюдения и т.п.).

Общие вопросы контроля качества и стандартизации лабораторных исследований в России регулируются национальными нормативными документами (приказы МЗ РФ, Государственные стандарты в области лабораторной медицины), созданными на основе соответствующих международных стандартов. Подробный анализ ошибок, которые могут возникать на каждом из этапов, содержится в работах, посвященных обеспечению качества лабораторных исследований (Guder et al., 2003; Мошкин, Долгов, 2004; Меньшиков, 2005, 2012; Plebani, 2010; и др.). Если до 1990-х годов процесс стандартизации касался в основном аналитической стадии, то в настоящее время все большее внимание уделяется разработке правил ведения преаналитического и постаналитического этапов, которые более подвержены ошибкам, чем аналитический этап (Plebani, 2010).

Преаналитический этап. В целом, на этот этап приходится до 60 % времени, затрачиваемого на лабораторные исследования, из них 20 % — вне стен лаборатории (Guder et al., 2003; Мошкин, Долгов, 2004). Ошибки преаналитического этапа могут приводить к искажению результатов лабораторных исследований и, как следствие, к неправильной постановке диагноза, назначению неправильной терапии, к удорожанию и удлинению сроков лечения. Ошибки на этом этапе могут составлять более 70 % в общей структуре лабораторного исследования (Меньшиков, 2012) и в основном обусловлены ошибками при выборе тестов, при составлении заявки, при сборе образцов (гемолиз, свертывание, недостаточный объем, и т.д.), а также неверной идентификацией пациентов и/или образцов, использованием неподходящих емкостей, неправильным обращением, хранением и транспортировкой проб; до 5 % и более могут составлять ошибки в результате неправильной сортировки проб, неточности при аликвотировании, пипетировании и маркировке и т.п. (Plebani, 2010). К сожалению, как отметил вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики профессор А.Ж. Гильманов на пресс-конференции в рамках XVI Форума «Национальные дни лабораторной медицины России-2012», «...статистики лабораторных ошибок в России нет...». Одна из наиболее

острых проблем, затрудняющих стандартизацию преаналитического этапа, — использование «открытого» способа забора крови (либо шприцом, либо полой иглой в пробирку самотеком) в подавляющем (до 90 %) числе российских лабораторий; применение закрытых (вакуумных) систем взятия крови может существенно повысить точность и сопоставимость исследований. Рекомендации по проведению преаналитического этапа даны в ГОСТ Р 53079.4–2008.

Аналитический этап. Аналитический этап — «сердце» лабораторной работы и аналитического процесса, проходящего под контролем лабораторного персонала. Ошибки на этом этапе (от 7 до 13 %) могут возникать в результате неисправности оборудования, перепутывания клинических проб, невыявленной ошибки контроля качества и т.п. (Plebani, 2010). Однако критически важное значение для осуществления эффективных лабораторных исследований имеют следующие моменты:

— *необходимо использовать зарегистрированные в системе МЗ РФ тесты.* Это первый этап стандартизации, обеспечиваемый производителем диагностического теста, поскольку регистрации подлежат только те медицинские изделия, которые подтвердили свою эффективность в рамках медицинских испытаний на нескольких клинических базах;

— *необходимо строго соблюдать инструкцию по применению диагностического теста.* Инструкция по применению тест-системы содержит сведения по проведению преаналитического (условия взятия проб и их подготовки к анализу, ограничения и предосторожности при проведении анализа и т.п.), аналитического (подробное описание отдельных стадий анализа и оценки его результатов) и постаналитического (рекомендации по интерпретации результатов исследования) этапов, необходимые для качественного выполнения лабораторного исследования;

— *необходимо использовать тесты с высокими показателями диагностической чувствительности и специфичности.* Диагностическая чувствительность (ДЧ) и диагностическая специфичность (ДС) являются основными характеристиками лабораторного теста, которые определяют его диагностическую эффективность и должны учитываться при решении вопроса о том, стоит ли назначать данный тест (Флэтчер и др., 1998; ГОСТ Р 53022.3–2008). ДЧ теста отражает вероятность его положительного результата в присутствии патологии; высокочувствительные тесты позволяют выявлять больных среди населения. ДС отражает вероятность отрицательного результата в отсутствие патологии, что при высокой специфичности позволяет отсеивать здоровых из популяции с предполагаемой патологией. Обычно показатели ДЧ и ДС указываются в инструкциях производителей тест-систем (по крайней мере, зарубежных) в сопоставлении с данными других коммерческих тестов или могут быть рассчитаны лабораторным работником по мере накопления данных о реальном применении тест-системы в группах здоровых лиц и пациентов, заведомо страдающих предполагаемой патологией. При этом следует понимать, что показатели ДЧ и ДС, приводимые производителем тест-систем, в реальной клинической практике могут сильно отличаться от ожидаемых, поскольку совершенно очевидно зависят от срока применения теста от начала заболевания и используе-

мой для расчетов выборки пациентов (например, включение в выборку пациентов с определенными заболеваниями может влиять на специфичность анализа), а также от целого ряда других факторов (раздел 7.1.1, 7.3.4);

— *необходимо проводить внутрилабораторный контроль качества (ВЛКК).* ВЛКК необходим для оценки качества работы лабораторий, квалификации лабораторного персонала, выявления ошибок в иммунодиагностике и устранения их причин. ВЛКК проводят путем сопоставления результатов измерений, полученных в лаборатории, с контрольным образцом и определяют величину отклонения. Неотъемлемой составляющей организации ВЛКК служит выбор адекватного контрольного материала, который представляет собой однородный стабильный материал (например, панели сывороток). К сожалению, в настоящее время отечественные производители тест-систем выпускают панели контрольных сывороток исключительно для внутрилабораторного контроля и внешней оценки качества исследований социально-значимых заболеваний (ВИЧ, гепатиты и т.п.). Лишь ограниченное число компаний (например, ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород; «SeraCare», США) на коммерческой основе производят контрольные материалы для контроля качества серологической диагностики заболеваний. С учетом этого, для проведения внутрилабораторного контроля качества серологических исследований в клинико-диагностической лаборатории можно использовать сыворотки, полученные от пациентов с клинически установленным диагнозом КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ, в которых выявлены антитела к возбудителям этих инфекций, а также сыворотки от здоровых людей, в которых специфические антитела не выявлены. Такие сыворотки следует разлить по аликвотам и заморозить. Повторное замораживание и размораживание сывороток не рекомендуется, поэтому количество сыворотки в аликвоте должно быть достаточным для проведения одного цикла измерений. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества с использованием контрольных материалов описаны в ГОСТ Р 53133.2–2008.

— *желательно участие КДЛ в программах внешней оценки качества лабораторных исследований (ВОК).* Внешняя оценка качества включает объективную проверку результатов работы лаборатории, осуществляемую периодически внешней организацией. В России — это Федеральная система внешней оценки качества лабораторных исследований (ФСВОК). ФСВОК оказывает помощь КДЛ в обеспечении качества выполняемых исследований посредством предоставления информации о правильности результатов исследования контрольных образцов, рекомендаций по устранению источников выявляемых ошибок и совершенствованию используемых тестов. К сожалению, до настоящего времени лабораторные исследования по диагностике КЭ, ИКБ, эрлихиозов не контролируются ФСВОК.

Постаналитический этап. Ошибки постаналитического этапа (до 20 и даже до 45 %) могут быть обусловлены неправильным вводом данных и ошибкой при записи данных от руки, несообщением результатов или передачей результатов не тому адресату, не сообщением или задержкой сведений о критических значе-

ниях и т.п.; однако наибольшую опасность представляет ошибочная валидация или неверная интерпретация результатов анализа (Plebani, 2010). В связи с этим критически важное значение имеет понимание врачом клинической информативности лабораторного теста, то есть способности теста выявлять различия в уровне содержания тех или иных маркеров заболевания у больных и здоровых людей.

Оценка клинической информативности лабораторного теста включает определение не только ДЧ и ДС, но также предсказательной ценности и отношений правдоподобия положительных и отрицательных результатов (Флэтчер и др., 1998; ГОСТ Р 53022.3–2008); расчет этих показателей позволяет ответить на вопрос, насколько велика вероятность заболевания определенной этиологии, если однократно измеренный (например при анализе первой порции сыворотки поступившего в стационар пациента) результат теста положительный, или с какой надежностью можно исключить диагноз, если тест отрицательный. При этом чрезвычайно важно понимать, что предсказательная ценность лабораторного теста по отношению к конкретной болезни — апостериорная (Эпидемиологический словарь, 2008; Флэтчер и др., 1998), или (синоним) посттестовая (Флэтчер и др., 1998; ГОСТ Р 53022.3–2008), вероятность — зависит не только от его ДЧ и ДС, но и от частоты самой болезни в исследуемой популяции, то есть от априорной (Эпидемиологический словарь, 2008; Флэтчер и др., 1998), или (синоним) претестовой (Флэтчер и др., 1998; ГОСТ Р 53022.3–2008), вероятности заболевания, которую можно ожидать у конкретного пациента до проведения лабораторного исследования (устанавливается на основе анализа медицинской литературы, архивов медицинских учреждений, личного опыта врача-специалиста). Безусловно, лучшее подтверждение активности инфекционного процесса и, как следствие, предполагаемого диагноза — выявление сероконверсии специфических IgM на IgG и/или не менее чем 4-кратного нарастания титров антител в парных сыворотках; однако такие закономерности удается установить не всегда (раздел 7.3.4, 7.3.5) и в любом случае лишь на более поздних сроках заболевания.

Поскольку в клинической практике используют лабораторные тесты, чувствительность и специфичность которых ниже 100 %, вероятность наличия заболевания при использовании только одного теста определяется как не очень высокая и не очень низкая, предположим, между 10 и 90 % (Флэтчер и др., 1998, С. 89). Получив такой результат, врач может применить дополнительные тесты, которые позволят повысить посттестовую вероятность обнаружения заболевания (при совпадении результатов первичного и дополнительного исследования) или, наоборот, снизить или полностью исключить вероятность данной патологии (при несовпадении результатов первичного и дополнительного исследования). Несколько тестов, проведенных параллельно, обеспечивают, как правило, более высокую чувствительность, чем каждый тест в отдельности (то есть снижается вероятность пропуска заболевания), но одновременно возрастает вероятность получения ложноположительных диагнозов (Флэтчер и др., 1998, С. 90).

Проблемы стандартизации тестов для диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ. Лабораторные тесты, используемые при лабораторной диагностике КЭ, ИКБ, ГАЧ, МЭЧ недостаточно стандартизованы, на что указывают многие специалисты (Hofmann et al., 1983; Artsob, Garvie, 1991; Craven et al., 1996; Wilske et al., 1998; Magnarelli et al., 1998; Niedrig et al., 2001, 2007; Donoso Mantke et al., 2007a; Cerar et al., 2006; ECDC, 2011; Muller et al., 2012). Помимо рассмотренных выше причин общелабораторного характера, влияющих на качество лабораторного исследования в целом, можно выделить ряд специфических моментов, затрудняющих стандартизацию лабораторных тестов именно при этих инфекциях (табл. 7.1).

Таблица 7.1. Проблемы стандартизации лабораторных тестов для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами

Проблема	Последствия проблемы
Отсутствие надежного референтного стандарта (патогномоничный признак, регулярное подтверждение наличия возбудителя в культуре и т.п.) или универсального биомаркера (выявляемого лабораторными методами при всех проявлениях и в любой период заболевания), которые можно было бы использовать для подтверждения этиологии различных клинических проявлений на разных сроках заболевания, а также для объективной «калибровки» аналитических характеристик тест-систем.	Значения пороговых уровней для оценки результатов анализа выбираются производителями тест-систем (и в научных исследованиях) произвольно на основе компромисса между желательным соотношением числа ложноположительных и ложноотрицательных результатов (Stanek et al., 1996; Vrouqui et al., 2004). Для снижения вероятности ошибок первого рода (то есть гипердиагностики) показатель диагностической специфичности устанавливается на уровне не ниже 95% (Gustafson et al., 1990), а его выбор осуществляют, как правило, на основе анализа сывороток от ограниченного числа клинически здоровых доноров крови. Вследствие этого при использовании тест-системы в эндемичном регионе с высоким уровнем группового иммунитета (см. раздел 2.7) может наблюдаться значительное число ложноположительных результатов и несоответствие заявленным производителем показателей специфичности значениям, установленным при обследовании реальных пациентов
Отсутствие стандартизации тест-систем по набору антигенов.	Высокая межлабораторная вариабельность результатов вследствие использования разных, в том числе местных, штаммов возбудителя (Robertson et al., 2000) и нестандартизованности цельноклеточных и культуральных антигенов (Magnarelli et al., 1998; Ravin et al., 1998).
Отсутствие единых критериев интерпретации качественных, полуколичественных или количественных результатов, полученных в тест-системах разных производителей.	Отсутствие четкой корреляции между результатами, полученными в различных тест-системах и между разными лабораториями (DBG Guidelines, 2010; Ang et al., 2011), ошибки в интерпретации результатов и неоправданные расходы на лечение (Muller et al., 2012).
Отсутствие унифицированной панели контрольных материалов и стандартизованных препаратов положительных контролей с заданным уровнем перекрестной реактивности (в частности, с различными флавивирусами) для проведения внутрилабораторного контроля и внешней оценки качества.	Отсутствие четкой корреляции между результатами, полученными в различных тест-системах и между разными лабораториями (DBG Guidelines, 2010; Ang et al., 2011), ошибки в интерпретации результатов и неоправданные расходы на лечение (Thibodeaux, Roehrig, 2009; Muller et al., 2012).

Необходимость создания общеевропейской системы внешней оценки качества серологических тестов и автоматических ПЦР систем, независимой от производителей тест-систем, обсуждалась в конце 2011 г. на совещании экспертов

по проблемам заболеваний, передающихся клещами (ECDC, 2011). Не менее актуально создание такой системы в США и Канаде (Sider et al., 2012). По-видимому, и в России необходимо рассмотреть вопрос о создании системы контроля качества измерений при лабораторной диагностике заболеваний, передающихся иксодовыми клещами. Для этого надо разработать панель контрольных материалов, как это сделано, например, в Германии (Muller et al., 2012), и предусмотреть возможность включения разработанной панели в Федеральную систему внешней оценки качества.

Существенным условием для независимой оценки и стандартизации существующих и новых тестов могла бы стать реализация идеи о создании биобанка материалов (McEwen, Reilly, 1994; Therrell et al., 1996; Steinberg et al., 2002; Помелова, Осин, 2007; ECDC, 2011; Agüero-Rosenfeld, 2011; Sider et al., 2012). В него должны войти биоматериалы от больных КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ с подробно описанными клиническими проявлениями, а также от хорошо охарактеризованных пациентов с другими заболеваниями. Исследование таких биоматериалов, в том числе собранных в различных географических регионах, позволит, в частности, установить региональные уровни серопозитивности, которые необходимо учитывать при рациональной разработке серологических тестов; в последующем такие материалы могут использоваться при проведении сероэпидемиологических и молекулярно-биологических исследований. Важным компонентом таких исследований может стать использование стандартизованных бумажных бланков для сбора цельной крови, ее компонентов или иных биологических материалов (раздел 7.5.5).

7.2. Прямая детекция возбудителя

7.2.1. Микроскопия

Иммунофлуоресцентная микроскопия для индикации вируса КЭ. Иммунофлуоресцентная микроскопия используется как метод экспресс-индикации (редко) или метод ускоренной индикации и идентификации на этапе выделения вируса КЭ (Гайдамович, 1982). В первом случае материалы, подозрительные на наличие вируса, помещают непосредственно на предметное стекло, окрашивают с помощью антител, меченых флуоресцентным красителем флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ), и регистрируют свечение клеток с помощью флуоресцентного микроскопа. Во втором случае исследуемым материалом заражают перевиваемую культуру клеток СПЭВ или первичную культуру клеток куриного эмбриона (ККЭ). В культуре клеток СПЭВ вирус КЭ обнаруживают по характерному цитопатогенному действию, идентифицируют методом прямой или непрямой иммунофлуоресценции (прежнее название — метод флуоресцирующих антител). Метод прямой иммунофлуоресценции включает использование специфических

к вирусу КЭ антител, меченных ФИТЦ, которыми обрабатывают монослой зафиксированных ацетоном клеток. В методе непрямой иммунофлуоресценции (нРИФ) сначала используют специфическую иммунную сыворотку, содержащую антитела к вирусу КЭ, а затем соответствующую антивидовую сыворотку, меченную ФИТЦ. Обнаружение вирусспецифического антигена проводят по характерному изумрудно-зеленому свечению цитоплазмы клеток. В культуре ККЭ осуществляют как индикацию вируса, так и его идентификацию методом нРИФ с использованием набора моноспецифических типовых сывороток или моноклональных антител.

Отрицательный результат микроскопического исследования не исключает диагноза, поскольку вероятность успеха в значительной степени зависит от срока взятия материала, условий его обработки и хранения до вирусологического выделения. При обследовании в первые 4 дня частота выделения вируса из крови и спинномозговой жидкости может составлять 12–40%. Общее время исследования с индикацией вируса методом иммунофлуоресценции — 7 дней.

Темнопольная микроскопия витальных препаратов (ИКБ). Темнопольная микроскопия (ТПМ) — это вид оптической микроскопии, в которой контраст изображения увеличивают за счет регистрации только света, рассеянного изучаемым образцом, при этом удается зарегистрировать даже незначительные различия в преломляющей способности участков препарата.

Метод ТПМ широко применяется для определения спонтанной инфицированности клещей боррелиями (см. разделы 3.4.2; 3.4.4), изучения вертикальной и горизонтальной передачи боррелий (раздел 3.4.3), контроля накопления возбудителя в культуре (Aguero-Rosenfeld et al., 2005), а также для обоснования назначения предупредительной антибиотикотерапии в случае выявления боррелий в клеще, снятом с покусанного человека (см. раздел 8.3). Исследованию подвергают гемолимфу и содержимое кишечника клещей. С помощью ТПМ, однако, невозможно определить видовую принадлежность возбудителей и оценить их патогенность для человека.

Применение ТПМ для выявления боррелий в клинических материалах (кровь, ликвор, биоптат тканей) ограничено в связи с низкой чувствительностью метода, что в значительной степени обусловлено низкой концентрацией возбудителя в биологических пробах. Отрицательный результат микроскопических исследований не исключает присутствия боррелий в организме пациента.

Микроскопия окрашенных фиксированных препаратов (ИКБ, ГАЧ, МЭЧ).

Микроскопия фиксированных препаратов, как и витальных (см. выше), с равным успехом используется при оценке зараженности клещей боррелиями (МУ, 1991). Объектом микроскопии служит кишечник живых голодных особей, в котором боррелии обнаруживаются особенно часто. Для просмотра фиксированных мазков, окрашенных по Романовскому-Гимза, необходим микроскоп со светлопольным конденсором. Благодаря простоте приготовления препаратов удается сравнительно быстро исследовать индивидуально массовые сборы клещей. Недостатки такие же, как в случае ТПМ (см. выше).

Исследование мазков периферической крови, окрашенных по Райту (Wright) или Гимза (Giemsa), обеспечивает наиболее раннее подтверждение эрлихиозной или анаплазмозной этиологии заболевания (Dumler et al., 2007; Thomas et al., 2009; Ismail et al., 2010); другим материалом для приготовления мазков могут быть костный мозг и спинномозговая жидкость (СМЖ). Положительное заключение о наличии инфекции делается на основе выявления «выгравированных» внутри вакуолей бактериальных включений (морул) темно-синего или пурпурного цвета. Морулы, характерные для *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*, выявляются в нейтрофилах и моноцитах соответственно. Применение этого теста наиболее целесообразно в течение первой недели после начала заболевания до проведения антибиотикотерапии. При соблюдении этих условий чувствительность диагностики ГАЧ или МЭЧ составляет от 25 до 75 % для *A. phagocytophilum* и существенно ниже (2–38 %) для *E. chaffeensis* (Dumler et al., 2007).

Исследование клещей в принципе возможно (см. раздел 4.2.1), однако в любом случае по результатам микроскопии мазков невозможно определить видовую принадлежность возбудителей и оценить их патогенность для человека.

Микроскопия гистологических препаратов, импрегнированных серебром (ИКБ).

Для патогистологической диагностики ИКБ возможно использование микроскопии гистологических препаратов, импрегнированных серебром (МУ, 1991). После специальной обработки кусочков тканей из биопсийных и секционных материалов боррелии окрашиваются в бархатно-черный цвет и легко различимы в срезе по характерной извитой форме; в практических целях, однако, такой подход применяется редко. Методы серебрения возбудителя в мазках, отпечатках и каплях для *B. burgdorferi sensu lato*, как правило, вообще не применяют, используя более простые и быстрые способы их выявления (см. выше).

7.2.2. Культивирование

Выделение вируса КЭ. Работа по сбору, хранению, транспортировке и вирусологическому обследованию материалов от больных КЭ и из природных очагов проводится при строгом соблюдении режима, обеспечивающего безопасность персонала.

Вирусологический метод основан на выделении вируса клещевого энцефалита путем заражения белых мышей или клеточных культур. При интрацеребральном заражении новорожденных белых мышей показателем размножения вируса являются параличи и смерть животных (Леннет, Шмидт, 1974; Гайдамович, 1982).

Материалом для выделения вируса служит кровь, плазма, сыворотка крови от больных, мозг погибших людей, иксодовые клещи. Вирус наиболее целесообразно выделять из крови, взятой на первой неделе заболевания до начала лечения специфическим иммуноглобулином. Для вирусологического исследования живых клещей, снятых с человека, их необходимо поместить в герметично за-

крявающуюся пробирку с небольшим кусочком чуть влажной ваты и направить в лабораторию с соблюдением «холодовой цепи».

У зараженных подозрительным на наличие вируса КЭ материалом животных с манифестной формой инфекции берут мозг, готовят из него суспензию и проводят последующие 3–4-кратные пассажи в мозг подопытных животных этой суспензией для накопления вируса в количестве, достаточном для идентификации. У животных с инapparатной формой инфекции дополнительно исследуют нейро- и иммунокомпетентные органы иммуноферментным методом на 7, 14, 21-е сутки. Пробы иммунокомпетентных органов с наличием положительного теста на антиген отбирают и готовят из них суспензию, проводят 3–5-кратные пассажи заражения подопытных животных этой суспензией для накопления вируса в количестве, достаточном для идентификации (Леонова, Борисевич, 2003).

По данным Леоновой и Майстровской (1996) наиболее часто вирус может быть изолирован из крови больных клещевым энцефалитом и лиц с жалобами на присасывание иксодовых клещей в первые 1–4 дня после укуса (54,7 % случаев), тогда как к 5–10-му дню вероятность изоляции вируса снижается до 9,6 %. На более поздних сроках частота выделения вируса может снова возрастать, а затем снижаться, что по мнению этих авторов свидетельствует о волнообразном характере вирусемии у обследованных и отражает закономерности развития инфекционного процесса (см. раздел 2.6).

Для идентификации изолятов и последующего серотипирования штаммов вируса КЭ используют классические серологические реакции нейтрализации, связывания комплемента, гемагглютинации и торможения гемагглютинации, диффузной преципитации в агаре (Clarke, 1964; Трухина и др., 2007 и др.) и метод иммуноферментного анализа на основе моноклональных антител (например, Караванов и др., 1998); для генотипирования — методы молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (Верхозина и др., 2007; Демина и др., 2007а), в том числе на основе биочиповой системы (Демина и др., 2007б) и полимеразной цепной реакции (например, Карань и др., 2007, 2007а).

По результатам выявления вируса КЭ в клещах судят о целесообразности введения «покусанным» специфического иммуноглобулина с профилактической целью (СП 3.1.3.2352–08; раздел 8.2.2).

Культивирование боррелий. Для выделения боррелий используют материалы от больных людей (кровь, ликвор, лимфа, внутрисуставная жидкость, биоптаты тканей и др.), иксодовых клещей, грызунов. Боррелии чрезвычайно требовательны к условиям культивирования. Оптимальной питательной средой для изоляции и культивирования возбудителей ИКБ является модифицированная среда Barbour-Stoenner-Kelly — BSK-II (раздел 3.2.1). Для успешного выделения возбудителей необходимо использовать биологический материал, собранный на ранних стадиях заболевания до начала антибиотикотерапии. Взятие материала должно осуществляться в стерильных условиях с последующей быстрой доставкой в микробиологическую лабораторию и помещением в питательную среду.

Из кожных биоптатов, взятых в области мигрирующей эритемы (МЭ) у не-леченных пациентов, не менее чем в 40 % случаев удается изолировать боррелии; при хроническом атрофирующем акродерматите и боррелиальной лимфоцитоме процент положительных результатов от 22 % и выше (ссылки из обзора Agüero-Rosenfeld et al., 2005; Liveris et al., 2012). Существенно реже удается выделить боррелии из цельной крови или ее компонентов (сыворотка, плазма), что может быть обусловлено низким уровнем спирохетемии (примерно 0,1 культивируемая клетка/мл цельной крови) у некоторых пациентов (Wormser et al., 2001). Для повышения вероятности успешного выделения боррелий при культивировании рекомендуется увеличить объем крови либо использовать плазму (предпочтительно) или сыворотку вместо цельной крови (Wormser et al., 2001; Agüero-Rosenfeld et al., 2005). Однако даже при этих условиях эффективность изоляции боррелий остается невысокой (Goodman et al., 1995). В российском исследовании первичные изоляты боррелий из плазмы крови удалось получить лишь у 10 из 79 (12,7 %) больных с эритемной формой ИКБ (Нефедова и др., 2009). Оптимальный срок выделения возбудителя из крови — первая–вторая неделя от начала этого заболевания (Maraspin, 2001; Нефедова и др., 2009; Nowakowski et al., 2009).

Культуральный метод, хотя и считается «золотым стандартом» диагностики ИКБ, не имеет широкого применения в практике клинических диагностических лабораторий ввиду длительности накопления боррелий (от 3–4 до 10 недель), дороговизны, непродолжительности боррелиемии и слабого накопления боррелий в крови. Получение от пациента других биоматериалов для посева чаще всего связано с болезненными и нежелательными процедурами.

Культивирование анаплазм и эрлихий. Для выделения анаплазм и эрлихий используют периферическую кровь пациентов, а также материалы от иксодовых клещей и грызунов (Dumler et al., 2007; Thomas et al., 2009; Ismail et al., 2010). Культивирование *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis* проводят на клеточных линиях HL-60 (от человека, больного промиелоцитарной лейкемией) и DH82 (собачья гистиоцитарная линия), соответственно. Среда для культивирования не должна содержать антибиотики, которые могут подавлять рост этих внутриклеточных бактерий. Накопление возбудителя в инфицированных клеточных линиях контролируют по образованию морул при микроскопическом исследовании отобранных из супернатантов проб. Срок получения положительного результата может составлять до двух недель или более. Выделение возбудителей ГАЧ и МЭЧ в культуре клеток наиболее целесообразно в течение первой недели от начала заболевания до проведения антибиотикотерапии. В этом случае чувствительность детекции *A. phagocytophilum* составляет не менее 55 %, что близко к показателю метода ПЦР (67–90 %); на более поздних сроках эффективность культивирования этого возбудителя значительно ниже. Чувствительность выявления *E. chaffeensis* даже на первой неделе заболевания сильно варьирует (Dumler et al., 2007).

7.2.3. Преимущества, недостатки, ограничения и практическая целесообразность применения методов прямой детекции

Методы прямой детекции возбудителей КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ — «золотой стандарт» лабораторной диагностики и могут быть использованы для подтверждения острой стадии заболевания, изучения динамики хронизации болезни, контроля эффективности лечения.

Преимущества: успешное выделение возбудителя из клинического материала позволяет подтвердить этиологию заболевания на ранних сроках до появления специфических антител и идентифицировать возбудитель; обеспечивает возможность специфической профилактики (КЭ) или предупредительной терапии (ИКБ, ГАЧ, МЭЧ) на основе выявления возбудителя в клещах, снятых с покусанных пациентов.

Недостатки: длительность, трудоемкость, необходимость соблюдения противоэпидемического режима, необходимость подготовки высококвалифицированного персонала для постановки и учета результатов микроскопического исследования и культивирования.

Ограничения и практическая целесообразность: применение методов прямой детекции возбудителей КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ ограничено, как правило, острым периодом этих заболеваний, что связано с непродолжительностью вирусемии (бактериемии), и возможно в основном до лечения пациентов. Проведение работ по прямой детекции возбудителей должно проводиться при строгом соблюдении правил работы с возбудителями 2–4-й групп патогенности. С учетом этого прямые методы детекции могут применяться только в специализированных микробиологических лабораториях, способных обеспечить требования противоэпидемического режима при работе с живым возбудителем. При лабораторном подтверждении активной инфекции у больного человека методы прямой детекции возбудителей рассматриваются как дополнительные к более простым серологическим тестам; их целесообразно использовать на ранней серонегативной стадии заболевания до получения регистрируемого серологического ответа, а также в случаях, когда серологические методы дают неубедительные результаты.

7.3. Серологическая диагностика

Материалом для выявления специфических антител при серологической диагностике КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ являются сыворотки крови (и/или СМЖ), собранные в начале заболевания и в стадии реконвалесценции. При исследовании этих материалов необходимо соблюдать правила, установленные для работы с вирусом клещевого энцефалита, так как в пробах крови может присутствовать возбудитель КЭ или другой инфекции.

Для установления факта нарастания титров исследование сывороток необходимо проводить в одном опыте; в связи с этим все пробы крови больного сохра-

няют до конца периода обследования при температуре -20°C и ниже. Альтернативным способом сбора, хранения и транспортировки проб является нанесение нескольких пятен крови на фильтровальную бумагу (МУ, 1991; Fenollar, Raoult, 1999; раздел 7.5.5).

7.3.1. Непрямая реакция иммунофлуоресценции (нРИФ)

Клещевой энцефалит. Применение метода нРИФ для выявления антител к вирусу КЭ проводится в основном в специализированных вирусологических лабораториях, имеющих возможность нарабатывать зараженные вирусом клетки. В лаборатории создают запас препаратов фиксированных антигенсодержащих клеток, которые хранят до использования при температуре -70°C или -20°C . По мере необходимости стекла вынимают, на клеточный монослой наносят сначала исследуемую сыворотку пациента, а затем ФИТЦ-меченную сыворотку против иммуноглобулинов человека (Гайдамович, 1982). Антитела к вирусу КЭ, также как в ИФА, могут выявляться в нРИФ уже с первых дней после начала заболевания. Поскольку исследуемая сыворотка взаимодействует со спектром структурных и неструктурных белков, представленных в антигенсодержащих клетках, нРИФ выявляет широкие антигенные связи между вирусом КЭ и другими флавивирусами. Идентификация инфицирующего агента проводится путем оценки реактивности сыворотки больного одновременно против нескольких родственных флавивирусов и путем выявления не менее чем 4-кратной разницы в титрах антител при взаимодействии сыворотки с гомологичным и гетерологичным антигенами.

Иксодовые клещевые боррелиозы. нРИФ была разработана одной из первых и предложена в клиническую практику для диагностики заболеваний группы ИКБ. До настоящего времени этот тест используется, в том числе и в России (Коренберг и др., 2000; Алыпина и др., 2002), однако постепенно уступает место более простому, быстрому, высокопроизводительному и менее трудоемкому методу иммуноферментного анализа (раздел 7.3.4).

Принцип метода нРИФ состоит во взаимодействии специфических антител, содержащихся в анализируемом материале (сыворотка крови, СМЖ, внутрисуставная жидкость) с корпускулярным антигеном, зафиксированным на предметном стекле; для проявления реакции используют сыворотку против глобулинов человека, меченную ФИТЦ. Использование поливалентных (против всех классов иммуноглобулинов) или специфических (против определенных классов иммуноглобулинов) ФИТЦ-меченных антисывороток позволяет определять как общее количество специфических антител, так и антител определенных классов.

В России в качестве антигенов для нРИФ наиболее широко используют корпускулярный антиген Ip21 (*B. afzelii*) производства НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи (раздел 3.1). Методические основы нРИФ представлены в «Методических указаниях...» (МУ, 1991), основные итоги применения этой реакции при лабораторной

диагностике ИКБ в России — в разделе 3.1. Данные о чувствительности и специфичности этого метода рассмотрены в разделе 7.3.4.

Гранулоцитарный анаплазмоз и моноцитарный эрлихиоз человека. Метод нРИФ многими исследователями рассматривается как референтный метод для серологической диагностики ГАЧ и МЭЧ (ссылки из обзора Fenollar et al., 2007; Nicholson et al., 1997). До 15-го дня после начала заболевания нРИФ часто дает отрицательные результаты (Ravin et al., 1998; Childs et al., 1999), поэтому подтвердить диагноз указанных заболеваний удастся, как правило, ретроспективно на основе не менее чем 4-кратного нарастания титров специфических антител. Специфические IgM обычно выявляются в первые 45–50 дней после заражения, а чувствительность их выявления не превышает чувствительность детекции IgG в тот же временной интервал (Walls et al., 1999). Специфические антитела к возбудителям ГАЧ и МЭЧ могут выявляться (по сероконверсии) при субклиническом или бессимптомном течении инфекции, при этом необходимо учитывать высокий уровень иммунной прослойки (Grzeszczuk et al., 2007).

Для подтверждения МЭЧ в нРИФ первоначально использовали антиген *E. canis*; достоверным считали титр не ниже чем 1:64. Позже стали применять нанесенный на предметные стекла специфический антиген из *E. chaffeensis* (ссылки из Коренберг, 1999), который, благодаря генетической и антигенной близости с другими представителями рода *Ehrlichia*, может быть использован для выявления антител и у российских больных МЭЧ. Для верификации ГАЧ в нРИФ сначала использовали внутриклеточные антигены, фиксированные на слайдах; затем была показана возможность применения очищенных внеклеточных антигенов из *A. phagocytophilum*, более удобных в использовании (Brouqui et al., 2001). При диагностике ГАЧ и МЭЧ методом нРИФ могут быть ложноположительные результаты, обусловленные взаимодействием с белками теплового шока (Tajima et al., 2000).

В связи с существованием перекрестных реакций при серодиагностике ГАЧ и МЭЧ, в исследование целесообразно включать антигены обоих возбудителей (и других возбудителей, которые могут передаваться при укусе клеща) или использовать процедуру предварительного истощения сывороток (Nicholson et al., 1997; Fenollar et al., 2007). Как правило, результаты удастся дифференцировать при последующем исследовании в иммуноблоте (Brouqui et al., 1992; Yu et al., 1996; Chen et al., 1997; Wong et al., 1997).

Несмотря на высокую межлабораторную вариабельность результатов вследствие использования разных штаммов возбудителя и нестандартизованности культуральных антигенов, использование нРИФ для скрининга сывороток от больных людей считают перспективным (Magnarelli et al., 1998).

7.3.2. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) наиболее часто используют для серологического подтверждения в остром периоде заболевания, вызванного

возбудителями КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ. Метод ИФА позволяет подтвердить диагноз КЭ уже на 4–5-й день заболевания на основе однократного выявления антител класса М; при отсутствии IgM диагноз может быть поставлен на основе появления или не менее чем 4-кратного нарастания титра специфических IgG (Иерусалимский, 2001). При лабораторной диагностике ИКБ, ГАЧ и МЭЧ результат выявления специфических антител на первой неделе заболевания часто оказывается отрицательным в связи с замедленным формированием регистрируемого серологического ответа. В таких случаях проводят повторное исследование сывороток, собранных на более поздних сроках болезни.

В основе метода непрямого иммуноферментного анализа лежит взаимодействие содержащихся в исследуемой сыворотке специфических антител с антигенами возбудителей, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок полистиролового планшета. Образовавшийся иммунный комплекс выявляют с помощью антивидовых антител, конъюгированных с пероксидазой хрена, по образованию окрашенного продукта. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации антител в тестируемой сыворотке.

При серодиагностике клещевого энцефалита в тестах для определения специфических IgG на дне лунок микропланшетов сорбируют очищенные вирусные частицы или рекомбинантные антигены, а также моноклональные антитела, которые образуют комплекс с препаратом очищенного и инактивированного вируса КЭ; во всех случаях иммобилизованные антигены связывают антивирусные антитела, содержащиеся в сыворотке (или СМЖ) пациента. В тестах для определения специфических IgM на дне лунок микропланшетов сорбируют очищенные вирусные частицы или рекомбинантные антигены, а также моноклональные антитела к IgM человека, которые образуют комплекс с фракцией IgM, содержащейся в исследуемом образце сыворотки (вариант MAC-ELISA); для проявления реакции используют комплекс антигена вируса КЭ с моноклональными антителами к этому вирусу, мечеными пероксидазой хрена. Использование варианта MAC-ELISA позволяет избежать ложноположительных результатов, обусловленных интерференцией с ревматоидным фактором и гетерофильными антителами (Günther, 1997; Hofmann, 1983, 1990).

Для разграничения первичной флавивирусной инфекции от реинфекции или реактивации и дифференциальной диагностики инфекций, вызываемых разными флавивирусами, применяют модификации ИФА, позволяющие определить индексы авидности (Gassman, Bauer, 1997) и значения коэффициента позитивности специфических IgG при взаимодействии обследуемой сыворотки крови больного с гомологичным и гетерологичным рекомбинантными вирусными антигенами. Такой подход успешно применили В. В. Распопин и др. (2006) для дифференциальной диагностики КЭ и лихорадки Западного Нила (ЛЗН) и установления стадий этих заболеваний.

В последние годы активно развиваются направления, связанные с применением ИФА для определения комплекса сывороточных цитокинов на ранних стади-

ях заболевания до появления регистрируемых уровней специфических IgM, IgG антител к вирусу КЭ (Шаркова и др., 2011); дифференциальная диагностика КЭ с другими заболеваниями (ИКБ, микст-инфекция) может быть проведена на основе различий в уровне цитокинов ИЛ-1а, ИФН_γ, ИЛ-10.

При серодиагностике ИКБ в тестах первого поколения в качестве источника антигена для выявления IgG и IgM антител (раздельно или в комбинации) использовали цельноклеточные антигены боррелий, обработанные ультразвуком (или лизаты после обработки детергентами). Позже начали применять выделенную из боррелий фракцию белков-антигенов или очищенный флагеллин, что позволило снизить уровень перекрестных иммунологических реакций (Coleman, Venach, 1987; Hansen et al., 1988). В современных тестах третьего поколения используют различные комбинации высокоспецифичных иммунодоминантных белков боррелий или их полипептидных фрагментов, не содержащих участков аминокислотной цепи, гомологичных антигенным детерминантам других микроорганизмов (Agüero-Rosenfeld et al., 2005; Wilske et al., 2007).

При серодиагностике ГАЧ первоначально использовали антигены на основе цельноклеточного возбудителя (Ravin et al., 1998), что требовало подтверждения в иммуноблоте для повышения специфичности. Позже была продемонстрирована возможность использования в качестве антигена для ИФА рекомбинантного белка р44 *A. phagocytophilum* (Zhi et al., 1998, 1999; Ijdo et al., 1999).

При серодиагностике МЭЧ в качестве основных антигенов в ИФА используют рекомбинантные белки TRP120 и р28 *E. chaffeensis* (Brouqui et al., 1992; Yu et al., 1996; Chen et al., 1997; Wong et al., 1997; Zhi et al., 1998; Unver et al., 1999; Tajima et al., 2000).

Рекомбинантные и пептидные антигены. Молекулярная основа для серологической диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ — иммунореактивные белки возбудителей этих инфекций: вируса КЭ, *B. burgdorferi sensu lato*, *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis* (*E. muris* — в России), соответственно. Для повышения диагностической чувствительности и специфичности лабораторных методов в состав диагностических тестов все чаще включают рекомбинантные и пептидные антигены этих возбудителей (в качестве единственного антигена или в комбинации с другими антигенами).

Для серодиагностики КЭ используют иммуноферментные тесты, построенные, как правило, на использовании очищенных вирусных частиц или поверхностного гликопротеина Е (Prince и Hogrefe, 2005). Белок Е — важный фактор вирулентности вируса КЭ (Holzmann et al., 1997), хотя в целом она контролируется рядом генов и имеет многофакторный характер (Heinz et al., 2003). Этот протеин играет существенную роль в связывании вируса с клеточной поверхностью, слиянии вирусной и клеточной мембран, в процессах сборки вирусной частицы (Heinz et al., 1981; Mandl et al., 1989), в формировании гуморального и клеточного иммунитета (Mandl et al., 1989; Holzmann et al., 1993; Волкова и др., 1998; Volkova et al., 1999). Для снижения уровня перекрестных реакций между антителами к различ-

ным флавивирусам (Roehrig, 2003; Stiasny et al., 2006) и дифференциации флавивирусов серокомплекса клещевого энцефалита от флавивирусов, передающихся комарами (Holbrook et al., 2004), перспективно использование пептидов или индивидуальных высокоспецифичных доменов белка Е, прежде всего серотипспецифичного домена D3 и его фрагментов (Beasley et al., 2004; Robertson et al., 2007; Herrmann et al., 2007; Обрядина и др., 2008; Ludolfs et al., 2009; Chavez et al., 2010).

Включение в состав тест-систем рекомбинантных белков Е и премаембранного ргМ (Yoshii et al., 2003), ргМ/М пептида (Hua et al., 2010) и вирусоподобных частиц для выявления специфических IgM, IgG (Jaaskelainen et al., 2003; Holmes et al., 2005; Obara et al., 2006) позволяет облегчить стандартизацию вирусных антигенов и избежать необходимости работы с использованием инфекционного вируса. Вместе с тем необходимо учитывать возможные различия в связывании антител растворимыми и вирионными формами белка Е вследствие разной доступности его эпитопов (Kiermaug et al., 2009).

Специфические антитела могут быть выявлены не только к структурным, но и к неструктурным белкам NS5, NS3, NS1, NS2A, NS4B вируса КЭ (Matveeva et al., 1995; Матвеева, 2000). Методом иммуноблота продемонстрировано, что антитела к неструктурным вирусным белкам в сыворотках и СМЖ больных КЭ людей могут составлять значительную долю в суммарном гуморальном иммунном ответе против вируса КЭ. Поскольку неструктурные белки образуются только в клетках и отсутствуют в вирионах, появление антител к различным белкам без преобладания какого-нибудь из них отражает ответ организма хозяина на лизис зараженных клеток до завершения созревания вириона (Матвеева, 2000). Белок NS1 может оказаться перспективным для раннего выявления антител к вирусу КЭ при двухволновом течении клещевого энцефалита (Черницына, Караванов, 2007, 2008), а также при инapparантной форме инфекции, вызванной вариантами вируса КЭ с низкой нейроинвазивностью и характеризующейся отсутствием синтеза антител к структурному белку Е (Кондратьева, 2005). Более того, белок NS1 обеспечивает защиту от заболевания, индуцируя как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ (Jacobs et al., 1994; Timofeev et al., 1998, 2004).

Работы последних лет (Hayasaka et al. 2004; Беликов и др., 2007, 2010а, б; Романова, 2011; и др.) свидетельствуют о существовании связи между генетическими особенностями штаммов вируса КЭ и их вирулентностью. Установлено, что многие группоспецифичные мутации находятся в функционально значимых участках вирусного генома, кодирующих как структурные ргМ, Е, С, так и неструктурные NS1, NS2B, NS3, NS4B, NS5 белки. Из них наиболее важны три мутации, которые обуславливают существенные изменения аминокислот в капсидном белке С и неструктурных белках NS3 и NS1; это может приводить к нарушению структуры и функции указанных белков и, как следствие, к различиям в вирулентности штаммов вируса КЭ (Беликов и др., 2010а; раздел 2.6). В целом, однако, роль неструктурных вирусспецифических белков в иммунобиологии и патогенезе клещевого энцефалита и возможность их использования в качестве основы для раз-

работки вакцин и компонентов диагностических тестов изучены недостаточно (Vaughan et al., 2010).

Для серологической диагностики ИКБ выбор оптимальной композиции антигенов важен критически. Это связано со сложностью антигенной структуры боррелий, способностью некоторых антигенов к дифференциальной экспрессии в организме переносчика и хозяина (Schwan et al., 1995; Gilmore et al., 1999; Schwan, Piesman, 2002; Aguero-Rosenfeld et al., 2005; Aguero-Rosenfeld, 2011), а некоторых — к исключительной экспрессии *in vivo* в организме инфицированного млекопитающего хозяина (Das et al., 1997; Fikrig et al., 2000), антигенными различиями между геновидами *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Jauris-Heipke et al., 1993; Theisen et al., 1993; Roessler et al., 1997; Hauser et al., 1998a; Stanek, Reiter, 2011). Вместе с тем протеомный анализ продуктов экспрессии полноразмерного генома *B. burgdorferi* показал, что при естественной инфекции человека и животных антитела синтезируются к достаточно ограниченному набору иммуногенов (Barbour et al., 2008), что несколько облегчает решение задачи по подбору оптимальной композиции антигенов. Ниже приведено краткое описание ряда иммунодоминантных антигенов боррелий, наиболее часто используемых в составе тест-систем для лабораторной диагностики заболеваний группы ИКБ, которые необходимо учитывать при выборе диагностического теста для проведения лабораторной диагностики.

FlaB, флагеллин (p41), является иммунодоминантным антигеном (Craft et al., 1986; Coleman, Benach, 1987), индуцирующим активный синтез антител на ранних стадиях инфекции *B. burgdorferi sensu lato* (Grodzicki, Steere, 1988; Aguero-Rosenfeld et al., 1993; Dressler et al., 1993). Ген, кодирующий данный белок, находится на хромосоме. FlaB используется в диагностических тестах в качестве единственного антигена (Hansen et al., 1988; Hansen, Asbrink, 1989; Karlsson et al., 1990; Johnson et al., 1996) или в сочетании с другими антигенами (Lin et al., 1991). Недостаточно специфичен: обуславливает высокий уровень перекрестных реакций с антигенами других бактерий (Fawcett et al., 1992; Bruckbauer et al., 1992; Luft et al., 1993), а также с некоторыми тканевыми антигенами (Aberer et al., 1989; Luft et al., 1993). В настоящее время для повышения специфичности тестирования в основном используется внутренний фрагмент молекулы флагеллина (p41i), содержащий варибельный родоспецифичный иммунодоминантный домен (Gassmann et al., 1991; Rasiah et al., 1992; Luft et al., 1993).

FlaA (p37) — белок наружной оболочки флагеллина с молекулярной массой 37–38 кДа. Уровень гомологии между различными геновидами *B. burgdorferi sensu lato* по этому белку составляет 92–93%. Ген, кодирующий данный белок, находится на хромосоме. Иммуногенен. Недостаточно специфичен. Антитела к белку p37 выявляются на ранней стадии заболевания ИКБ (Dressler et al., 1993; Aguero-Rosenfeld et al., 1996; Gilmore et al., 1999; Panelius et al., 2001).

P39 — семейство паралогичных ламинин-связывающих белков VmpA, VmpB, VmpC, VmpD (Verma et al., 2009) со сходной молекулярной массой. Гены, кодирующие эти белки, расположены на хромосоме в кластере *bmp* (Simpson et al., 1994;

Ramamoorthy et al., 1996) и активно экспрессируются *in vitro* (Ojaimi et al., 2003). По крайней мере три из четырех bmp-белков (BmpA, BmpB и BmpD) вызывают формирование иммуноглобулинов у пациентов, инфицированных *B. burgdorferi*, которые выявляются в иммуноблоте в полосе р39 на ранней стадии заболевания ИКБ (Simpson et al., 1990; Bryksin et al., 2005).

Oms66/p66 — белок-порин-адгезин наружной мембраны *B. burgdorferi* (Skare et al., 1997), обеспечивающий прикрепление боррелий к клеточным поверхностным рецепторам человека (Ntchobo et al., 2001). Фактор вирулентности боррелий. Ген, кодирующий данный белок, находится на хромосоме. Иммуногенен. Считается, что С-терминальная область белка задействована в выявлении антител класса G (Bunikis et al., 1998; Ntchobo et al., 2001). Иммунный ответ видоспецифичен (Bunikis et al., 1996; Ornstein et al., 2002).

P83/100 — белок мембранных везикул, расположенный на поверхности клеток боррелий. Молекулярная масса 83/93/100 кДа. Ген, кодирующий данный белок, находится на хромосоме. Иммуногенен, высокоспецифичен. При хронической стадии инфекции к нему обнаруживаются преимущественно IgG (Brouqui et al., 2004; Aguero-Rosenfeld et al., 2005).

OspC — один из наиболее важных иммунодоминантных антигенов (p25), используемых для выявления IgM антител на ранних стадиях инфекции *B. burgdorferi sensu lato*. Имеет молекулярную массу от 21 до 25 кДа. Соответствующий ген представлен единственной копией на циркулярной плазмиде sp26, начинает экспрессироваться во время питания клеща, когда спирохета еще находится в кишечнике клеща (Wilske et al., 1986; Dressler et al., 1993; Aguero-Rosenfeld et al., 1993; Padula et al., 1994; Engstrom et al., 1995). OspC — высокогетерогенный белок (21 генотип OspC). Различия наблюдаются не только между геновидами *B. burgdorferi sensu lato* (Jauris-Heipke et al., 1993; Theisen et al., 1993; Mathiesen et al., 1996), но и внутри геновидов (Wilske et al., 1995). OspC рассматривается как важный фактор вирулентности, ответственный за инфекционные и инвазивные свойства штаммов *B. burgdorferi sensu lato* (Masuzawa et al., 1994; Wang et al., 1999; Dykhuizen, Baranton, 2001; Lagal et al., 2003). Антитела, вырабатываемые против OspC, могут быть боррелицидными. В настоящее время в диагностических тестах используется не только белок OspC (Padula et al., 1994; Ivanova et al., 2009), но и синтетический пептид (pепC10), соответствующий иммуногенной консервативной С-терминальной области этого белка (Mathiesen et al., 1998a).

DbpA (Osp17) — декорин-связывающий белок А, локализованный на поверхности клеток боррелий. Ген, кодирующий белок, входит в состав локуса *dbpBA* на линейной плазмиде lp54 (Fraser et al., 1997). DbpA — иммуногенный продуцируемый *in vivo* антиген, антитела к которому обладают протективным действием (Hanson et al., 1998). Среди изолятов *B. burgdorferi sensu lato* наблюдаются значительные различия по аминокислотному составу этого белка. Поэтому рекомендуется использовать комбинацию DbpA *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii* в качестве антигена на диссеминированной стадии ИКБ (Jauris-Heipke et al., 1999; Heikkila

et al., 2002a). Антитела к DbpA могут выявляться в течение длительного времени в СМЖ больных нейроборрелиозом.

DbpB — декорин-связывающий белок B, также как DbpA, локализован на поверхности клеток боррелий. Ген, кодирующий белок, входит в состав локуса *dbpBA* на линейной плазмиде lp54 (Fraser et al., 1997). DbpB — иммуногенный продуцируемый *in vivo* антиген (Hanson et al., 1998; Cinco et al., 2000), не обладающий, в отличие от DbpA, протективным действием (Roberts et al., 1998). Гомология по аминокислотному составу DbpB боррелий трех геновидов, вызывающих заболевание ИКБ в Европе, составляет от 62 до 67% при сохранении высокой (99–100%) внутривидовой гомологии (Heikkila et al., 2002b). Рекомендуется использовать комбинацию DbpB *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii* в качестве антигена для выявления IgG антител на диссеминированной стадии ИКБ (Heikkila et al., 2002b; Panelius et al., 2007). Рассматривается в качестве маркера активного инфекционного процесса при выявлении антител в СМЖ больных нейроборрелиозом (Panelius et al., 2007).

OspA — молекулярная масса 31–34 кДа; липопротеин. Мажорный белок наружной мембраны. Ген *OspA* находится на линейной плазмиде lp54. Обладает высокой степенью полиморфизма у европейских штаммов. Иммуногенен и высокоспецифичен. Синтез OspA в значительной степени подавляется в кишечнике клеща во время питания (Schwan, Piesman, 2000, 2002). Антитела к OspA определяются на поздних стадиях инфекции (Dressler et al., 1993; Akin et al., 1999), прежде всего у больных с антибиотико-резистентными формами Лайм-артрита (Steere et al., 2011) и другими последствиями перенесенного заболевания (Chandra et al., 2011b).

OspB — молекулярная масса 34–36 кДа. Поверхностный мембранный белок-липопротеин. Антитела к OspB, также как и к OspA, определяются на поздних стадиях инфекции (Dressler et al., 1993; Akin et al., 1999) и могут быть боррелицидными (Callister et al., 1993; Sadziene et al., 1993, 1994; Ikushima et al., 2000).

VlsE — вариабельный поверхностный липопротеин (Variable major protein-like sequence, expressed) с молекулярной массой примерно 34 кДа. Кодирован геном, который находится на линейной плазмиде lp28–1. Белок VlsE содержит вариабельные домены и шесть высоко консервативных доменов (IR_{1–6}), выявляющихся у различных штаммов и геновидов *B. burgdorferi sensu lato* (Zhang et al., 1997). Наиболее консервативен иммунодоминантный домен IR₆, который расположен на поверхности белка VlsE и отвечает за формирование активного гуморального ответа (Liang et al., 1999a; Lawrenz et al., 1999). На основе аминокислотной последовательности IR₆ синтезирован пептид C₆, состоящий из 26 аминокислот. Он сохраняет антигенные свойства IR₆ (Liang et al., 1999a) и позволяет достичь высокого уровня чувствительности и специфичности при выявлении антител к *B. burgdorferi sensu lato* как у американских, так и у европейских пациентов (Lawrenz et al., 1999; Liang et al., 2000). Ранний гуморальный ответ к пептиду C₆, регистрируемый уже через неделю после появления симптомов заболевания, обусловлен преимущественно

IgG антителами; IgM появляются в те же сроки, что и IgG, но не повышают чувствительность теста (Liang et al., 1999b). Помимо иммунодоминантного домена IR6, выявлены другие консервативные регионы, полезные при серологической диагностике осложнений после перенесенных заболеваний группы болезни Лайма (Chandra et al., 2011a).

ВВК32 (p35) — фибронектинсвязывающий белок (Fikrig et al., 1997, 2000; Akin et al., 1999) с молекулярной массой примерно 38 кДа, состоящий из 352–360 аминокислот (Heikkila et al., 2002b). Впервые описан как p35 в форме, утратившей некоторые N-терминальные аминокислоты (Fikrig et al., 1997). Ген, кодирующий этот белок, находится на плазмиде lp36, экспрессируется *in vivo* (Fikrig et al., 2000). ВВК32 локализован в наружной мембране, обеспечивает адгезивные свойства боррелий, прикрепление и связывание с клетками макроорганизма. Гомология по аминокислотному составу трех основных патогенных видов боррелий составляет 71–100%. Иммуногенен, высокоспецифичен. Антитела против антигена обладают протективным эффектом при пассивной иммунизации мышей. Рекомендуется для выявления IgG антител на диссеминированной стадии ИКБ (Heikkila et al., 2002b). Для повышения эффективности серодиагностики лучше использовать комбинацию рекомбинантных антигенов различных геновидов боррелий (Lahdenne et al., 2003), особенно в виде комбинации фрагментов средней части этого белка (Lahdenne et al., 2006).

ВВК07 — поверхностный иммунодоминантный липопротеин (Barbour et al., 2008), синтезируемый *in vivo* при инфицировании *B. burgdorferi* (Coleman, Pal, 2009). Состоит из 250 аминокислот (Fraser et al., 1997). Гены расположены на линейной плазмиде lp36. *In vitro* выявляются только на первых пассажах; экспрессия на последующих пассажах отсутствует вследствие потери плазмиды либо сбоя в процессах транскрипции или трансляции. Гены ВВК07 — высоко консервативны у американских штаммов *B. burgdorferi sensu stricto*, но отсутствуют у *B. garinii* и *B. afzelii*. Это обуславливает возможность использования белка для дифференциации инфекции американскими и европейскими боррелиями (Barbour et al., 2008). Иммуногенна аминокислотная часть молекулы, расположенная на поверхности бактериальной клетки (Coleman, Pal, 2009). На основе этого фрагмента, играющего наиболее важную роль в формировании иммунного ответа хозяина, синтезированы иммунодоминантные пептиды P1, P5, P7, перспективные для создания диагностических тестов (Coleman et al., 2011). Установлено, что при выявлении антител как на ранней, так и на поздней стадии инфекции, тесты на основе комбинации пептидов P1P5P7 более эффективны, чем полноразмерный белок и обладают уникальной способностью выявлять антитела к *B. burgdorferi* в сыворотках, серонегативных по данным тестирования с пептидами С6 и реРС10 (Coleman et al., 2011).

Для серологической диагностики ГАЧ и МЭЧ в состав диагностических тест-систем включают рекомбинантные белки; в последние годы активно развивается направление, связанное с использованием пептидов. Ниже приведено краткое описание ряда иммунодоминантных антигенов, перспективных для лабораторной диагностики этих инфекций.

Как установлено к настоящему времени, все представители *Anaplasmataceae* содержат мультигенное семейство, кодирующее главные поверхностные белки (MSP) (Zhi et al., 1999). Многие из этих белков составляют суперсемейство OMP-1/MSP2/P44 (Dunning Hotopp et al., 2006).

В геноме *A. phagocytophilum* наиболее широко представлены гены *p44* (113 локусов). Эти гены характеризуются наличием высоко консервативных 5' и 3' последовательностей, фланкирующих внутренний гипервариабельный регион (Barbet, 1995; Viseshakul et al., 2000). Они отвечают за продукцию белковых антигенов с молекулярной массой от 36 до 49 кДа (Asanovich et al., 1997). Гены *p44* включают несколько паралогов (от *p44-1* до *p44-65*), которые дифференциально экспрессируются в теплокровных животных и клещах, обеспечивая антигенную адаптацию (Zhi et al., 1999; Ijdo et al., 2002; Caspersen et al., 2002; Peddireddi et al., 2009). MSP2 (*p44*) *A. phagocytophilum* отвечает за адгезионные и адаптивные свойства (Palmer et al., 2000; Caspersen et al., 2002; Park et al., 2003; Scorpio et al., 2004) и антигенную вариабельность возбудителя, способствующую уклонению от иммунного ответа хозяина. Иммунный ответ может быть направлен против как консервативного, так и гипервариабельного сегмента молекулы этого белка (Granquist et al., 2010). Рекомбинантный *p44* является основным антигеном, используемым в серологических реакциях для раннего выявления антител у больных ГАЧ (Zhi et al., 1998; Tajima et al., 2000).

Основные иммунореактивные белки *E. chaffeensis*, охарактеризованные к настоящему времени молекулярными методами, включают P28 (OMP1), TRP32 — содержащий тандемные повторы белок с молекулярной массой 32 кДа; его прежнее название — VLPT (или белок вариабельной длины-мишени для ПЦР), TRP47, TRP120, Ank200 (белок анкирин — 200 кДа); все эти белки активно взаимодействуют с сыворотками людей, больных МЭЧ, и собак, зараженных *E. chaffeensis* (McBride et al., 2003; Doyle et al., 2006; Luo et al., 2008, 2009).

Мультигенное семейство *p28* включает по меньшей мере 22 паралогичных гена, которые распределены вдоль сегмента генома размером 27 kb (Ohashi et al., 2001). Молекулярная масса соответствующих белков составляет от 26 до 32 кДа, а идентичность аминокислотной последовательности варьирует от 20 до 80% (Yu et al., 2000). Установлена дифференциальная экспрессия белков, контролируемых локусом *p28/p30*-OMP, в инфицированных макрофагах и в культуре клеток клещей, что связывают с процессом адаптации видов *Ehrlichia* к млекопитающим — хозяевам и клещам (Ganta et al., 2009; Peddireddi et al., 2009); выявлена высокая генетическая и антигенная вариабельность штаммов *E. chaffeensis* (Chen et al., 1997; Yu et al., 1999).

Белки с тандемными повторами (TRP) секретируются зараженными клетками, при этом наблюдается дифференциальная экспрессия белков TRP47 и TRP120 DC-формами эрлихий (Porov et al., 2000; Doyle et al., 2006). TRP32 у различных штаммов *E. chaffeensis* отличается числом повторов (Paddock et al., 1997), уникальным для каждого изолята (Childs et al., 1999). TRP47 — это эффекторный белок, участ-

вующий во взаимодействии с белками хозяина, ассоциированными с передачей клеточных сигналов, регуляцией транскрипции и перемещением везикул (Wakeel et al., 2009). Видоспецифичный высокогликозилированный иммунодоминантный поверхностный TRP120 — компонент внутриклеточного матрикса; в основном обнаруживается на DC-формах, отличается высокой штаммовой вариабельностью. Ank200 — самый большой иммунореактивный белок *E. chaffeensis*, который выявляется в ядре инфицированных моноцитов (Zhu et al., 2009).

Продемонстрирована возможность использования пептидов на основе TRP-белков для видоспецифической детекции антител к *E. chaffeensis*. Непрерывные видоспецифичные эпитопы идентифицированы в tandemных повторах белков TRP32, TRP47 и TRP120 этого возбудителя (Doyle et al., 2006; Luo et al., 2008, 2009). Показано, что TRP32 содержит от 2 до 6 неидентичных tandemных повторов (из 30 а.к. каждый), среди которых выявлено 2 главных видоспецифичных эпитопа для связывания антител (Luo et al., 2008). Единичные молекулярно различающиеся эпитопы (от 18 до 22 а.к.) обнаружены также в TRP47 и TRP120 (Yu et al., 1996; Doyle et al., 2006; Luo et al., 2009). Четыре основных эпитопа для связывания антител картированы молекулярными методами на белке Ank200 (Luo et al., 2010).

Основными антигенами, используемыми для подтверждающей диагностики МЭЧ, являются рекомбинантные белки TRP120 и p28 *E. chaffeensis* (Brouqui et al., 1992; Yu et al., 1996, 1999; Chen et al., 1997; Wong et al., 1997; Zhi et al., 1998; Unver et al., 1999; Tajima et al., 2000). Иммуные сыворотки больных МЭЧ взаимодействуют с антигенами TRP120 (Paddock, Childs, 2003) в большей степени, чем с p28 (Chen et al., 1997), что может быть связано либо с более низкой антигенностью p28, либо с его более высокой антигенной гетерогенностью (Yu et al., 1999b).

Чувствительность и специфичность анализа. Проведено сравнение чувствительности и специфичности ИФА на основе цельноклеточного и 11 рекомбинантных антигенов при выявлении иммуноглобулинов IgG и IgM к *B. burgdorferi sensu stricto* (табл. 7.2) и показано распределение титров антител (табл. 7.3) у пациентов в США.

Таблица 7.2. Сравнение чувствительности и специфичности ИФА с использованием цельноклеточного и рекомбинантных антигенов при выявлении антител к *B. burgdorferi sensu stricto* у пациентов в США (модифицированные данные Magnarelli et al., 2002)

Антиген	Число сывороток с положительным результатом выявления антител (в скобках — число обследованных людей)											
	БЛ (МЭ) (20)		ГАЧ+БЛ (44)		ГАЧ (11)		Сифилис (24)		Другие* (24)		Здоровые (28)	
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
ЦК**	20	20	33	26	0	0	20	20	7	3	0	0
p22	4	4	23	6	3	4	2	2	1/13	2/13	5	3
p35	1	3	1	0	1	0	0	8	0	1	1	0
p37	9	3	20	4	4	2	0	0	4	3	0	0
p39	4	9	19	5	0	0	3	4	3	9	3	4

Таблица 7.2. Окончание

Антиген	Число сывороток с положительным результатом выявления антител (в скобках — число обследованных людей)											
	БЛ (МЭ) (20)		ГАЧ+БЛ (44)		ГАЧ (11)		Сифилис (24)		Другие* (24)		Здоровые (28)	
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
p41-G	11	7	23	7	2	1	4	3	4	1	1	1
VlsE	8	16	7	18	1	0	0	0	0	1	0	0
OspA	3	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0
OspB	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OspC	11	8	23	15	1	0	0	0	3	2	1	4
OspE	7	4	6	0	0	0	0	0	1	0	0	0
OspF	5	8	9	19	1	4	4	4	2	1	0	2

Примечания: *Другие — пациенты с заболеваниями ротовой полости, ревматоидным артритом, возвратной лихорадкой; **ЦК — цельноклеточный антиген *B. burgdorferi sensu stricto* 2591; БЛ — болезнь Лайма; МЭ — мигрирующая эритема.

Тест на основе цельноклеточного антигена был наиболее чувствительным при выявлении специфических IgM и IgG антител к *B. burgdorferi sensu stricto* у пациентов с эритемной формой болезни Лайма, в том числе в сочетании с ГАЧ, однако недостаточно специфичным (табл. 7.2). У больных с эритемной формой заболевания наиболее чувствительным из рекомбинантных антигенов был белок VlsE: 80 % и 40 % при определении IgG или IgM, соответственно. Продемонстрирована эффективность применения рекомбинантных белков OspC и p41-G для выявления специфических IgM на ранних сроках заболевания.

Титры антител в сыворотках больных с эритемной формой заболевания варьировали в широких пределах (табл. 7.3). Наиболее высокие значения титров были зарегистрированы (в порядке убывания титров) с рекомбинантными белками OspC, p41-G, p22 (определение IgM) или VlsE и p39 (определение IgG); при использовании цельноклеточного антигена титры были высокими при определении иммуноглобулинов обоих классов.

Таблица 7.3. Титры антител в сыворотках больных с эритемной формой болезни Лайма (США), определенные в ИФА на основе цельноклеточного и рекомбинантных антигенов (по Magnarelli et al., 2002).

Антиген	Диапазон титров		Среднегеометрический титр	
	IgM	IgG	IgM	IgG
ЦК**	160–40960	160–20480	1808	1576
p22	160–10240	640	1280	640
p35	640	320–640	640	508
p37	160–1280	160–320	436	202
p39	160–1280	640–10240	538	1493
p41-G	320–20480	320–5120	2257	951

Таблица 7.3. Окончание

Антиген	Диапазон титров		Среднегеометрический титр	
	IgM	IgG	IgM	IgG
VlsE	160–5120	320–20480	987	2061
OspA	640	0	640	0
OspB	0	0	0	0
OspC	320–40960	160–2560	3093	453
OspE	160–640	160–640	363	453
OspF	640–1280	320–2560	735	830

Примечание: области, отмеченные серым цветом, соответствуют наиболее высоким титрам антител.

Продемонстрирована перспективность использования рекомбинантного белка ВВК32 и его фрагментов для выявления ранних IgG антител у европейских пациентов (Lahdenne et al., 2003, 2006). Предварительная оценка эффективности этих препаратов, приготовленных из боррелий 3 геновидов, показала, что наиболее высокая чувствительность при выявлении IgG антител у больных с эритемной формой ИКБ была достигнута при использовании фрагмента 2 из ВВК32 *B. afzelii* (табл. 7.4). Вместе с тем этот препарат был недостаточно специфичным (88%) при анализе проб от пациентов контрольной группы.

Таблица 7.4. Чувствительность и специфичность выявления IgG антител у европейских пациентов с использованием ИФА на основе белка ВВК32 (и его фрагментов) (по Lahdenne et al., 2006).

Антигены	Статус пациентов				
	МЭI (n=23)	МЭII (n=23)	III (n=16)	Контроль (n=25)	Доноры (n=6-46)
<i>B. afzelii</i> *	43****	52	94	12	2
<i>B. garinii</i> *	22	17	94	4	0
<i>B. burgdorferi</i> *	22	13	94	4	0
Любой из 1–3	43	52	94	12	2
<i>B. afzelii</i> **	17	26	100	12	0
<i>B. garinii</i> **	13	9	88	4	0
<i>B. burgdorferi</i> **	13	13	94	4	0
Любой из 4–6	17	26	100	12	0
Fla-IgM***	30	26	31	8	0
Fla-IgG***	22	22	100	16	0
Рекомбинантный IgG***	50 (n=22)	55 (n=22)	100	28	н.и.

Примечания: * — рекомбинантный фрагмент 2 белка ВВК32 из *B. afzelii*, *B. garinii* или *B. burgdorferi*; ** — рекомбинантный белок ВВК32 из *B. afzelii*, *B. garinii* или *B. burgdorferi*; *** — три коммерческие тест-системы на основе флагеллина или рекомбинантных белков; **** — % положительных проб; МЭI, МЭII — пробы от пациентов с эритемной формой ИКБ, подтвержденной выделением возбудителя или выявлением его ДНК в ПЦР, собранные при поступлении пациентов (МЭI) и через 1–3

месяца после лечения (МЭП); III — пациенты с диагнозом Лайм-нейроборрелиоза, Лайм-артрита или атрофического акродерматита; контроль — пробы от больных сифилисом, положительным ревматоидным фактором и т.п.

Активно развивается направление, связанное с использованием пептидов для выявления специфических антител к *B. burgdorferi sensu stricto*, в том числе VlsE C6 (Liang et al., 1999a, б; 2000), OspC10 (Mathiesen et al., 1998a, б) и OspC7 (Ivanova et al., 2009), BBK07 (Coleman et al., 2011), а также к *B. burgdorferi sensu lato*, в том числе VlsE C6 (Liang et al., 1999a, б; 2000), OspC7 (Ivanova et al., 2009). ИФА-тесты на основе пептида C6 рассматриваются как наиболее перспективные для подтверждающей серологической диагностики заболеваний группы ИКБ как в США (Steere et al., 2008; Wormser et al., 2013), так и в Европе (Branda et al., 2013).

Для демонстрации эффективности тестов на основе пептида C6 приведены данные о чувствительности этого метода на разных сроках заболевания болезнью Лайма. Уже на первой неделе удалось выявить специфические антитела более чем у 40 % американских пациентов с острой стадией (локализованной или диссеминированной) болезни; на более поздних сроках этот показатель достиг 90 % (табл. 7.5). Хотя в этой работе на каждом сроке исследовано всего по 5–10 проб, установленные показатели чувствительности были подтверждены в ряде более поздних работ (Помелова и др., 2009б, 2010в; и др.). Специфичность C6-ИФА составила 99 % (по данным обследования 176 больных с заболеваниями, которые могут влиять на результаты обследования).

Таблица 7.5. Число положительных проб, выявленных в ИФА на основе пептида C6 (модифицированные данные Liang et al., 1999б)

Неделя после начала заболевания	Число сывороток с IgG к пептиду C6	
	Абс.	%
1	3 из 7	43
2	8 из 11	73
3	4 из 5	80
4	5 из 6	83
5÷8	9 из 10	90
Всего	29 из 39	74,4

У больных болезнью Лайма, получивших антибиотики до взятия проб для исследования, при выявлении IgG антител как на ранней локализованной, так и на более поздней эритемной стадии заболевания с признаками диссеминации возбудителя пептид C6 оказался наиболее эффективным по сравнению с родительской молекулой белка VlsE и другими (не C6) пептидными фрагментами этого белка. Цельный белок VlsE выявлял существенно большее число проб с IgM, чем любой из его пептидных фрагментов (табл. 7.6).

Таблица 7.6. Сравнение эффективности выявления IgM, IgG антител к *B. burgdorferi* sensu stricto в сыворотках американских пациентов с болезнью Лайма в ИФА на основе пептидных фрагментов белка VlsE (модифицированные данные Embers et al., 2007).

Пептид	Выявлены IgM (%)			Выявлены IgG (%)			Выявлены IgM или IgG (%)		
	I* (n=23)	II** (n=14)	Всего	I	II	Всего	I	II	Всего
Ct	9	7	8	17	64	35	17	64	35
N1	9	0	5	17	21	19	22	21	22
N2	4	0	3	4	57	24	9	57	27
N3	0	0	0	9	21	14	9	21	14
C2	0	0	0	13	7	11	13	7	11
C4	0	0	0	4	14	8	4	14	8
C6	9	0	5	65	100	78	65	100	78
VlsE	48	14	35	13	79	38	48	86	62

Примечания: * — ранняя локализованная стадия с МЭ, подтвержденная выделением *B. burgdorferi* из биоптатов кожи, сыворотки собраны при поступлении пациента и в течение менее 2 мес.; ** — диссеминированная стадия, в основном Лайм-артрит, подтвержденный при 2-ступенчатом серологическом обследовании, или Лайм-нейроборрелиоз, подтвержденный выделением возбудителя из СМЖ.

Сравнение чувствительности и специфичности двухступенчатого подхода (см. разделы 7.1.2, 7.3.4), принятого в США, и тестов на основе пептида С6 продемонстрировало сопоставимую чувствительность, но несколько более низкую специфичность второго подхода (табл. 7.7); наибольшее число ложноположительных результатов было выявлено при анализе проб от больных лептоспирозом, аргасовым клещевым боррелиозом и сифилисом.

Таблица 7.7. Чувствительность (ДЧ)* и специфичность (ДС)* С6-ИФА и двухступенчатого подхода при обследовании американских пациентов с различными проявлениями болезни Лайма (по Steere et al., 2008).

Статус пациента	Двухступенчатое тестирование						С6-ИФА	
	IgM		IgG		IgM или IgG		IgG	
	ДЧ, %	ДС, %	ДЧ, %	ДС, %	ДЧ, %	ДС, %	ДЧ, %	ДС, %
МЭ (n=76); стадия: острая	25	99	11	99	29	99	29	96
реконвалесценции	55	99	18	99	64	99	56	96
Острые неврологические или сердечно-сосудистые проявления (n=13)	85	99	85	99	100	99	100	96
Артрит или хронические неврологические проявления (n=31)	н.и.		100	99	100	99	100	96

Примечание: * — см. раздел 7.1.3.

Аналогичные результаты были получены в отношении пептида С6 в кинетическом варианте ИФА. Сыворотки (n=280), обследованные на разных сроках от начала заболевания, были от 37 пациентов с МЭ, в большинстве случаев сопровождающейся клиническими проявлениями диссеминированной инфекции (множественные МЭ, проявления общеинфекционного синдрома); все пациенты прошли курс лечения антибиотиками (после получения первой пробы сыворотки). Наиболее высокий показатель чувствительности, особенно на раннем сроке заболевания, был достигнут при использовании комбинации пептидов С6 (для выявления IgG) и С10 (для выявления IgM) (табл. 7.8).

Таблица 7.8. Чувствительность (%) двухступенчатого тестирования и кинетического варианта ИФА для определения IgG и IgM антител к *B. burgdorferi sensu stricto* (по Bacon et al., 2003).

Вариант теста	Срок от начала заболевания		Все пробы (n=280)
	1-я неделя (n=37)	2–4-я неделя (n=31)	
рек. VlsE IgG	16*	61	66
С6 IgG	30	52	66
рек. VlsE IgM	3	32	36
С10 IgM	27	55	38
Двухступенчатая процедура	16	48	68
рек. VlsE IgG + рек. VlsE IgM	16	71	73
рек. VlsE IgG + С10 IgM	35	71	76
С6 IgG + С10 IgM	49	68	78

Примечание: * — приведен % положительных проб от числа обследованных в каждой группе.

Комбинация пептидов VlsE С6 и OspC10 реализована в новом подходе на основе люциферазной иммунопреципитирующей системы, причем использован синтетический пептид (VOVO), представляющий собой повторяющиеся последовательности пептидов IR6 из *B. burgdorferi sensu stricto* и *B. garinii* и 2 пептидов из консервативной С-терминальной области OspC (Burbelo et al., 2010). Новый подход был сопоставим с тест-системой С6-ИФА (и другими тестами на основе рекомбинантных антигенов) по чувствительности и специфичности и имел преимущества по динамическому диапазону определяемых концентраций антител и производительности. Для применения такого подхода к анализу европейских пациентов, возможно, также потребуется построение синтетического пептида на основе IR6 *B. afzelii*.

Аналогичные исследования в отношении гранулоцитарного анаплазмоза человека показали, что при подтверждающей серологической диагностике этого заболевания целесообразно использовать ИФА на основе рекомбинантного белка р44–2 из мультигенного суперсемейства MSP2/P44; этот антиген хорошо накапливается в культуре клеток HL-60 и специфически взаимодействует с сыворотками людей, больных ГАЧ (Zhi et al., 1998, 1999; Tajima et al., 2000). Использование NH₂-концевого

фрагмента рекомбинантного р44 (Zhi et al., 1998) по сравнению с гипервариабельным участком этого белка (Tajima et al., 2000) показывает более высокую эффективность при выявлении специфических антител: диагностическая чувствительность 100 % против 77 % (при 100 % специфичности) соответственно (Tajima et al., 2000). Вместе с тем пептиды на основе гипервариабельных белков MSP2/P44 также могут оказаться перспективными для раннего выявления антител к *A. phagocytophilum* (Granquist et al., 2010) при правильном выборе положения связывающего антитела эпитопа внутри гипервариабельной области (Zhuang et al., 2007).

При подтверждающей серологической диагностике МЭЧ наиболее широко используют рекомбинантные TRP120 и р28 *E. chaffeensis* (Brouqui et al., 1992; Yu et al., 1996; Chen et al., 1997; Wong et al., 1997; Zhi et al., 1998; Unver et al., 1999; Tajima et al., 2000). При этом отмечается существенно более высокая чувствительность выявления специфических антител с белком TRP120, чем с р28 (Yu et al., 1999a).

Разработку стандартизованных, надежных, чувствительных и специфичных тестов для диагностики МЭЧ связывают с использованием тестов на основе синтетического пептида из белка TRP120 (Luo et al., 2010). Использование этого пептида оказалось предпочтительным по сравнению с рекомбинантным белком TRP120, что может быть обусловлено более эффективной презентацией на пептиде эпитопов, связывающих антитела. ИФА на основе этого пептида продемонстрировал (Luo et al., 2010) наиболее высокую диагностическую чувствительность при серологической диагностике МЭЧ (96,8 %) по сравнению с другими пептидами, синтезированными на основе иммунодоминантных белков TRP32, TRP47 и Ank200 *E. chaffeensis* (табл. 7.9).

Таблица 7.9. Чувствительность выявления антител у больных МЭЧ (n=31) с использованием ИФА на основе синтетических пептидов из белков TRP32, TRP47, TRP120, Ank200 *E. chaffeensis* (по Luo et al., 2010)

Антиген	Число пациентов с антителами	
	Абс.	%
TRP32	27	87,1
TRP47	24	77,4
TRP120	30	96,8
Ank200	19	61,3
TRP32 + TRP120	26	83,9
Любой из антигенов	31	100

Коммерческие тест-системы на основе ИФА. Для серологической диагностики КЭ в России зарегистрированы тест-системы «ВектоВКЭ-IgM-стрип», «ВектоВКЭ-IgG», «ВектоВКЭ-антиген» компании ООО «Вектор-Бест», г. Новосибирск (Бутенко, Ларичев, 2007; Воробьева и др., 2007), а также наборы реагентов других отечественных производителей: «БиоСкрин-КЭ (IgM)», «БиоСкрин-КЭ (IgG)», «БиоСкрин-КЭ (Ag)» (ЗАО БТК «Биосервис», Москва); «ИФА-ВКЭ-IgM», «ИФА-ВКЭ-IgG» (ЗАО «Эколаб», г. Электрогорск); «ВКЭ-ИФА-IgM», «ВКЭ-ИФА-IgG» (ООО «Омникс»,

г. Санкт-Петербург); «ДС-ИФА-АНТИ-ВКЭ-G», «ДС-ИФА-АНТИ-ВКЭ-M» (ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород). На европейском рынке представлены диагностические наборы реагентов многих производителей (например немецких компаний NovaTec, ProGen, Mikrogen, Euroimmun и др.). В этих тестах в качестве активного специфического компонента для улавливания антител используются очищенные инактивированные антигены вируса КЭ или рекомбинантный антиген E. Тесты предназначены для полуколичественного или количественного определения антител, в том числе с возможностью представления результатов в единицах «Vienna» при контроле за эффективностью вакцинации (например наборы компании Euroimmun). В некоторых наборах для снижения неспецифических реакций используют адсорбенты для удаления ревматоидного фактора. Несмотря на большое количество выпускаемых коммерческих тест-систем различных производителей, вопросы их стандартизации по-прежнему актуальны (Hofmann et al., 1983; Niedrig et al., 2001, 2007). Для осуществления межлабораторных сравнений необходима разработка стандартизованных положительных контролей с заданным уровнем перекрестной реактивности с различными флавивирусами (Thibodeaux, Roehrig, 2009).

Для серологической диагностики заболеваний ИКБ в современных ИФА-тестах наиболее часто используют белки VlsE и OspC, в том числе в комбинации с другими рекомбинантными антигенами (табл. 7.10), что значительно улучшает качество диагностики (Magnarelli et al., 1996; Hauser, Wilske, 1997; Mathiesen et al., 1998b; Rauer et al., 1998; Heikkila et al., 2002b; Panelius et al., 2002, 2003). Вместе с тем продолжают использовать тесты первого поколения, для повышения специфичности которых в качестве антигенов применяют экстракты иммунодоминантных белков боррелий, выделенных из спирохет с помощью детергентов (табл. 7.10), а также процедуры предварительного истощения сывороток и подтверждающего тестирования в иммуноблоте (Wilske et al., 2000; Wilske, 2002; Aguero-Rosenfeld et al., 2005). В тест-системах для определения IgM на основе цельноклеточного антигена для снижения уровня неспецифических реакций в состав буфера для разведения проб включают адсорбент для удаления ревматоидного фактора.

Таблица 7.10. Примеры отечественных и зарубежных иммуноферментных тест-систем для серологической диагностики заболеваний группы ИКБ

Композиция антигенов в составе тест-системы	Коммерческое название тест-системы и ее производитель
Определение IgM	
«p41i+OspC+VlsE+DbpA»: Смесь рекомбинантных белков OspC, VlsE, DbpA и полипептидного фрагмента флагеллина p41i различных геновидов боррелий	«Боррелиоз-ИФА-IgM», «Боррелиоз-ИФА-спектр-IgM» (ООО «Омникс», г. Санкт-Петербург)
Цельноклеточный грубый лизат или очищенный антиген после ультразвуковой обработки или экстракции детергентом, на основе <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i> или только <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> , штамм B31	«Anti-Borrelia ELISA (IgM)» (Euroimmun, Германия); «VIDAS Lyme IgM» (Biomerieux Corp., International)

Таблица 7.10. Окончание

Композиция антигенов в составе тест-системы	Коммерческое название тест-системы и ее производитель
«14кДа+OspC»: Смесь (из различных геновидов боррелий) рекомбинантного белка OspC и полипептидного фрагмента флагеллина р41i (14кДа), который соответствует внутреннему участку молекулы флагеллина боррелий и не имеет иммунологических перекрестов с флагеллином возбудителя сифилиса <i>Treponema pallidum</i>	«Borrelia 14 kDa + OspC IgM ELISA» (IBL, Германия); «Borrelia IgM» (NovaTec, Германия)
«14кДа+OspC+VlsE»: Смесь рекомбинантных белков OspC, VlsE и полипептидного фрагмента флагеллина р41i различных геновидов боррелий	« <i>recomWell Borrelia IgM</i> » (Microgen, Германия)
Определение IgG	
Смесь рекомбинантных белков OspC, VlsE, p100, p41i, DbpA, VmpA/p39 трех геновидов боррелий	«Боррелиоз-ИФА-IgG», «Боррелиоз-ИФА-спектр-IgG» (ООО «Омникс», Санкт-Петербург)
Смесь рекомбинантных белков OspC, VlsE, p41, VmpA трех геновидов боррелий	«ЛаймБест» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск)
Цельноклеточный грубый лизат или очищенный антиген на основе трех геновидов боррелий, обогащенный рекомбинантным антигеном VlsE из <i>B. burgdorferi sensu stricto</i>	«Anti-Borrelia-plus-VlsE ELISA» (IgG) (Euroimmun, Германия); «Borrelia+VlsE IgG ELISA» (IBL, Германия);
Смесь рекомбинантных белков OspC (из <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> B31 и <i>B. garinii</i> 20047 и T25), p100+p18 (из <i>B. afzelii</i> PKo), p41i (из <i>B. garinii</i> PVi)	«Borrelia IgG» (NovaTec, Германия)
Смесь рекомбинантных белков OspC, VlsE, p100, p18 трех геновидов боррелий	« <i>recomWell Borrelia IgG</i> »(Microgen, Германия)
Определение IgM/IgG	
Смесь рекомбинантных белков трех геновидов боррелий Пептид С6 из белка VlsE <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> B31 (для использования в Северной Америке) или <i>B. garinii</i> Ip90 (для использования в Европе)	«Боррелиоз-ИФА-скрининг» (ООО «Омникс», Санкт-Петербург); «С6 Lyme ELISA» (Immunitics Inc., США)

В России для лабораторной диагностики ИКБ используют отечественные тест-системы компаний «Омникс» (Санкт-Петербург) и «Вектор-Бест» (Новосибирск), построенные на основе рекомбинантных иммунодоминантных белков боррелий (см. табл. 7.10). Продемонстрирована эффективность их применения в условиях клинико-диагностической лаборатории при серологической верификации ИКБ (Фризен и др., 2004, 2005).

Использование рекомбинантных и пептидных антигенов обеспечивает повышение чувствительности (Petersen et al., 2008) и позволяет дифференцировать специфический иммунный ответ, индуцированный *B. burgdorferi sensu lato*, от неспецифической иммунореактивности (Aguero-Rosenfeld et al., 2005; Wilske et al., 2007). Прежде всего это связано с внедрением в серологические исследования белка VlsE и пептидов С6, а также с успехами в выявлении антиборрелиозных IgG и IgM антител в ИФА на основе белков VlsE и OspC (Steere et al., 2008).

Тест на основе пептида С6 в последние годы стал наиболее популярным в США (Skarpaas et al., 2007). Его используют как единственный или в сочетании с иммуноблотом (Liang et al., 1999b; Bacon et al., 2003; Mogilyansky et al., 2004; Aguero-Rosenfeld et al., 2005; Marangoni et al., 2005), а также в комбинации с «цельноклеточным» ИФА (Branda et al., 2011). Этот тест обеспечивает высокую чувствительность на ранних

стадиях заболевания и позволяет выявлять антитела у больных, инфицированных различными геновидами боррелий, в том числе при выявлении антител в СМЖ при нейроборрелиозе (Weber et al., 1990); высокоспецифичен при исследовании больных с заболеваниями, которые могут влиять на результаты серодиагностики ИКБ (Liang et al., 19996, 2000; Bacon et al., 2003); одинаково эффективен по сравнению с двухступенчатой процедурой тестирования, принятой для диагностики ИКБ в США (Steere et al., 2008; Wormser et al., 2013) и в Европе (Branda et al., 2013). Вместе с тем при подтверждающей серодиагностике ИКБ в Евразии, где данное заболевание вызывают несколько патогенных для человека боррелий комплекса *B. burgdorferi sensu lato* (Коренберг, 2003), целесообразно в составе тест-систем использовать пептиды, соответствующие аминокислотной последовательности иммунодоминантных доменов IR₆ европейских геновидов боррелий (Liang et al., 2000; Gomes-Solecki et al., 2007; Krupka et al., 2009).

К 2010 году только в США зарегистрировано около 80 коммерческих тестов (FDA, 2010), однако проблема их стандартизации остается по-прежнему актуальной (раздел 7.1.3).

Для серологической диагностики ГАЧ и МЭЧ зарегистрированы отечественные ИФА-тест-системы «ГАЧ-ИФА-IgM», «ГАЧ-ИФА-IgG», «МЭЧ-ИФА-IgM», «МЭЧ-ИФА-IgG» производства ООО «Омникс» (г. Санкт-Петербург); в них используется смесь рекомбинантных иммунодоминантных белков *A. phagocytophilum* или *E. chaffeensis* соответственно. Результаты клинической апробации (Афанасьева и др., 2005) подтвердили возможность применения этих тестов для серологической верификации моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека.

7.3.3. Иммуноблот

Иммуноблот в основном используют для подтверждения специфичности антител, обнаруженных более простыми серологическими методами (см. раздел 7.3.4). Его применение в качестве единственного диагностического теста не рекомендуется. Это связано с существенным снижением специфичности серологического исследования, которое базируется исключительно на иммуноблоте (Engstrom et al., 1995; Johnson et al., 1996, 2011), и более низкой (по сравнению с ИФА) чувствительностью этого метода на ранних стадиях заболевания (Ledue et al., 1996; Aguero-Rosenfeld et al., 1996; Trevejo et al., 1999; Wormser et al., 2008; Ang et al., 2011), что может приводить к получению ложноотрицательных результатов (Tylewska-Wierzbanowska et al., 2002; Bacon et al., 2003). Сероконверсию при исследовании более поздних проб также не всегда удается выявить этим методом, поскольку лечение антибиотиками может влиять на иммунный ответ к боррелиям (Aguero-Rosenfeld et al., 1996).

В иммуноблоте устанавливают реактивность с иммунодоминантными белками (одним или более), характерными для возбудителей ИКБ, ГАЧ или МЭЧ. В основе метода иммуноблота, или Вестерн-блота, лежит определение в анализируемом образце наличия антител к специфическим антигенам, разделенным методом элек-

трофореза в полиакриламидном геле по длине денатурированных полипептидов или по трехмерной структуре нативных белков, а затем перенесенных на нитроцеллюлозную или поливинилиденфторидную мембрану. Идентификация полос разделенных антигенов на мембране проводится с использованием специфических антител, меченных колориметрической (пероксидаза) или иными типами меток.

Применение иммуноблота при заболеваниях группы ИКБ. Иммуноблот позволяет определить спектр специфических антител, синтезируемых у обследованного больного к различным антигенам боррелий, и может быть построен на основе нативных цельноклеточных лизатов или рекомбинантных антигенов (Dressler et al., 1993; Wilske et al., 2000; Wilske, 2002; Aguero-Rosenfeld et al., 2005). В иммуноблоте на основе нативных антигенов, как правило, используют ультразвуковой соникфикат, полученный из чистых штаммовых культур одного из видов *B. burgdorferi sensu lato*. Основной недостаток данного вида иммуноблота — присутствие в нем, кроме высокоспецифичных антигенов боррелий, ряда низкоспецифичных белков, которые могут существенно осложнить интерпретацию результатов тестирования из-за наличия перекрестных реакций. Для надежной идентификации белков в каждой из полос электрофореграммы используют моноклональные антитела к иммунодоминантным белкам боррелий. Однако вариабельность иммунодоминантных антигенов боррелий, патогенных для человека, значительно ограничивает использование иммуноблотов на основе нативных антигенов для диагностики заболеваний группы болезни Лайма. В иммуноблоте на основе рекомбинантных белков используют композиции иммунодоминантных высокоочищенных и высокоспецифичных рекомбинантных белков боррелий. Улучшение чувствительности рекомбинантного иммуноблота наблюдается при использовании полипептидов, соответствующих наиболее значимым иммуногенным детерминантам белков (например, VlsE или пептид С6), и комбинации гомологичных белков (например, DbpA и ВВК32) от различных геновидов боррелий (Magnarelli et al., 1996; Kaiser, 2000; Heikkila et al., 2002a; Goettner et al., 2005; Branda et al., 2010). Использование рекомбинантных иммуноблотов по сравнению с цельноклеточными лизатными имеет ряд преимуществ (Goettner et al., 2005): можно выбрать желательные специфические антигены (например р83/100, VmpA, VlsE); можно объединить гомологичные антигены из различных штаммов боррелий (например DbpA, OspC, VmpA); можно использовать фрагменты антигенов с более высокой специфичностью (например внутренний фрагмент флагеллина) или антигены, продуцируемые преимущественно *in vivo*, но не в культуре (DbpA и особенно VlsE) (Wilske et al., 19996; Heikkila et al., 2002a; Schulte-Spechtel et al., 2003; Zajkowska et al., 2010); проще процедура стандартизации и оценки, поскольку концентрацию и состав антигенов можно контролировать.

Линейный иммуноблот (line immunoblot). Чувствительность иммуноблота на основе рекомбинантных антигенов значительно улучшается (без потери специфичности) благодаря использованию дополнительных антигенов и разработке линейных иммуноблотов (Wilske et al., 19996; Schulte-Spechtel et al., 2003; Goettner et al., 2005). Принципиальные отличия лайн-иммуноблота от описанных выше

вариантов состоят в том, что каждый антиген наносится на мембрану в виде отдельной полосы. Это позволяет различить антигены с близкой молекулярной массой, устраняет влияние нереактивных белков, позволяет (благодаря отсутствию стадии денатурации и переноса на мембрану) сохранить нативную вторичную структуру антигена. Дополнительные преимущества состоят в снижении стоимости, более легкой процедуре стандартизации, а также в возможности автоматизации, поскольку каждый антиген расположен на строго определенном месте на мембранном стрипе (Goettner et al., 2005).

Интерпретация результатов иммуноблота. В США для интерпретации результатов иммуноблота используют рекомендации Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC, 1995): результат иммуноблота для определения IgM следует считать положительным, если в нем выявляется не менее двух из трех полос антигенов (Engstrom et al., 1995): 24 kDa (OspC — молекулярный вес варьирует), 39 kDa (BmpA) и 41 kDa (Fla); при выявлении IgG в положительном варианте ответа должны выявляться не менее пяти из 10 полос, соответствующих следующим антигенам (Dressler et al., 1993): 18 kDa, 21 kDa (OspC), 28 kDa, 30 kDa, 39 kDa (BmpA), 41 kDa (Fla), 45 kDa, 58 kDa (не GroEL), 66 kDa и 93 kDa. Эти критерии могут быть использованы в течение 4 недель после начала заболевания для интерпретации результатов как IgM, так и IgG иммуноблотов; на более поздних сроках следует применять лишь IgG-критерии, поскольку длительная персистенция IgM возможна даже после успешного лечения (Kalish et al., 2001; и др.), что (в отсутствие IgG) повышает вероятность получения ложноположительного IgM иммуноблота.

Однако американские критерии нельзя применять в Европе (Hauser et al., 1997, 1998; Robertson et al., 2000) и в России. Это связано с тем, что иммунный ответ у европейских пациентов развивается в большинстве случаев к иным, чем в США, этиологическим агентам заболевания и, соответственно, к существенно более узкому спектру белков боррелий (Dressler et al., 1994). Кроме того, существуют видовые и внутривидовые различия иммунодоминантных антигенов *B. burgdorferi sensu lato*, в том числе в зависимости от стадии инфекции (Dressler et al., 1994; Wilske et al., 2007; DBG Guidelines, 2010). С учетом этого были предложены штаммоспецифичные критерии интерпретации результатов иммуноблота (Hauser et al., 1997, 1998; Wilske et al., 2000; Robertson et al., 2000) и даны рекомендации по предпочтительному использованию штамма РКо *B. afzelii*, который обеспечивает идентификацию положительного результата IgG-иммуноблота по 2 полосам антигенов (Wilske et al., 1998). Позднее для Европы были сформулированы правила, обеспечивающие приемлемую чувствительность и специфичность иммуноблота (Robertson et al., 2000). Однако в них предложено использовать набор диагностических антигенов, отличающихся от перечня, рекомендованного ранее (Wilske et al., 2000; Cerar et al., 2006). Таким образом, даже с помощью новых рекомбинантных иммуноблотов полностью стандартизовать иммуноблот не удалось (Wilske et al., 1999b), особенно в отношении рекомбинантного IgM иммуноблота (Strle, Stanek, 2009).

Применение иммуноблота при ГАЧ И МЭЧ. В иммуноблоте на основе цельноклеточных антигенов выявляются белки с молекулярной массой 120, 66, 55, 44, 28 кДа (Brouqui et al., 1992). При этом, также как в нРИФ, может наблюдаться перекрестная реактивность между ГАЧ и МЭЧ, обусловленная связыванием с белками теплового шока (Tajima et al., 2000) и белками с мол. м. от 42 до 49 кДа, иными чем р44-ГАЧ (Ijdo et al., 1997). Использование рекомбинантных антигенов р30 (МЭЧ) и MSP2/р44 (ГАЧ) позволяет снизить уровень перекрестных реакций и обеспечивает возможность дифференциации сывороток, содержащих по данным нРИФ антитела к обоим возбудителям (Unver et al., 2001).

7.3.4. Специфичность, чувствительность, ограничения и практическая целесообразность различных серологических методов

Чувствительность. При оценке чувствительности серологического исследования необходимо принимать во внимание срок обследования больного от начала заболевания, особенности клинического течения болезни, возможность наличия у больного специфического иммунитета, сформировавшегося в процессе естественной или искусственной (вакцинация, введение специфического гамма-глобулина против вируса КЭ) иммунизации, но оказавшегося по тем или иным причинам недостаточно напряженным для предотвращения заболевания, введение с лечебной целью лекарственных препаратов, влияющих на функцию иммунной системы (Кветкова, 1984; Погодина и др., 1986; Леонова, 1997; Иерусалимский, 2001; Holzmann, 2003), или раннего начала антибиотикотерапии (Shrestha et al., 1985; Dattwyler et al., 1988; Berardi et al., 1988; Ismail et al., 2010), а также возможное влияние смешанной инфекции на развитие гуморального иммунного ответа (Якушева, 2003; Субботин и др., 2012); ложноотрицательные результаты могут быть также следствием недостаточной чувствительности и плохой стандартизации тест-систем.

При клещевом энцефалите IgM начинают выявляться на 2–3-й день после появления клинической симптоматики, достигают максимума на 2–3-й неделе, затем снижаются (Кветкова, 1984, 2004; Gunther et al., 1997; раздел 2.7). Для подтверждения клинического диагноза острого КЭ, как правило, достаточно однократного выявления в ИФА специфических IgM на 4–5-й день заболевания (Иерусалимский, 2001), при этом их удастся выявить примерно в 70% сывороток, собранных на первой неделе болезни (Лаврова, Наволокин, 1986; Помелова и др., 2006а; и др.), или в высушенных на фильтровальной бумаге пятнах крови (Помелова и др., 2008). В СМЖ пик активности IgM наблюдается между 9-м и 42-м днем после начала заболевания (Holzmann, 2003). Максимум выявления IgG в сыворотке и СМЖ регистрируется на 6-й неделе.

При отсутствии IgM диагноз может быть поставлен на основе появления или не менее чем 4-кратного нарастания титра специфических IgG. Наличие в сыворотке больного специфических IgG до начала заболевания влияет на срок появления, характер изменения уровня и скорость достижения максимальных титров иммуноглобулинов классов М и G (Кветкова, 1984, 2004) и должно учитываться

при интерпретации результатов серологического тестирования (Иерусалимский, 2001; Кветкова, 2004; см. раздел 7.3.5). При наличии IgG в сыворотках, взятых у пациентов в дебюте заболевания, гуморальный иммунный ответ может развиваться по первичному или вторичному типу (Кветкова, 1984). В первом случае наблюдается активная продукция IgM антител с последующим появлением IgG к концу первой недели болезни. Во втором случае иммунный ответ развивается на предшествующем иммунном фоне, сформировавшемся до начала заболевания КЭ. При этом с первых дней болезни отмечается высокий уровень антител обоих классов, а последовательная смена синтеза IgM на IgG выражена нечетко. Этот вывод проиллюстрирован данными (рис. 7.1), полученными при выявлении антител к вирусу КЭ у больных Пермского региона с использованием метода лантанидного иммунофлуоресцентного анализа — ЛИФА (Помелова и др., 2006).

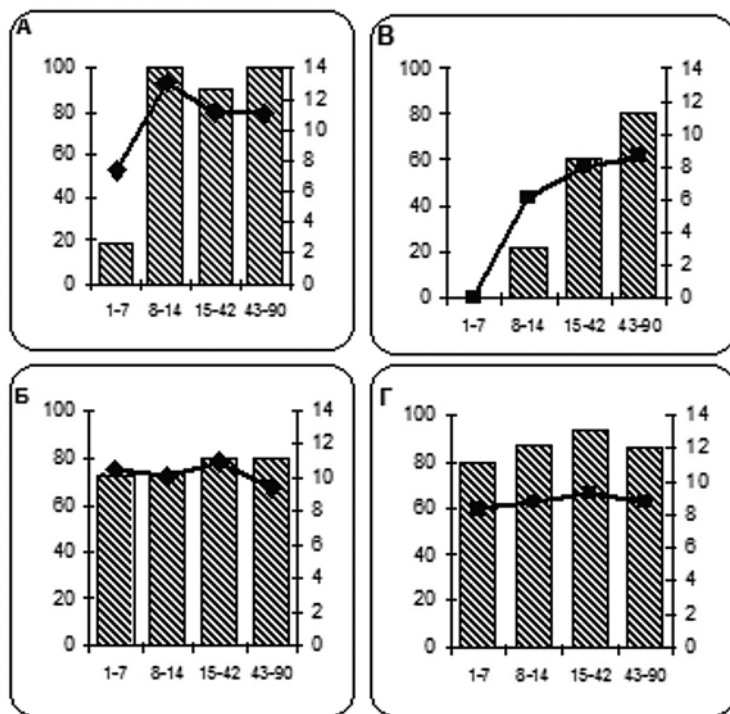


Рис. 7.1. Изменение доли (гистограммы) и СГТ (кривые) сывороток, содержащих IgM (А, Б) или IgG (В, Г) антитела, в зависимости от отсутствия (А, В) или наличия (Б, Г) у пациентов специфических IgG до начала заболевания КЭ (по данным В.Г. Помеловой и др., 2006).

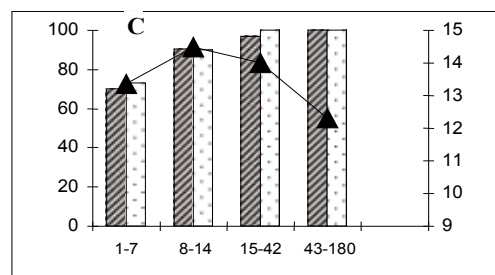
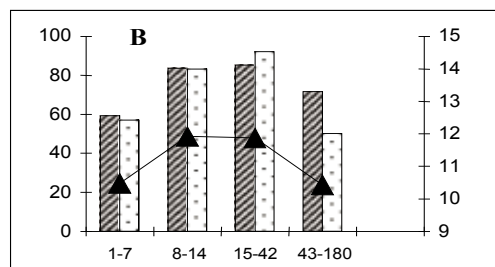
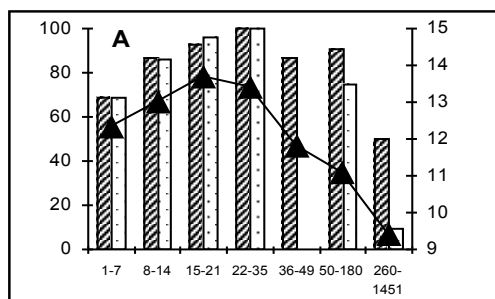
Ось ординат (левая) — доля проб, содержащих специфические IgM или IgG антитела (в %).

Ось ординат (правая) — СГТ IgM или IgG антител (в log₂).

Ось абсцисс — срок от начала заболевания (в днях).

В случае тяжелого течения КЭ, у больных выявляется повышенная концентрация В-лимфоцитов, сопровождающаяся более активным, чем при лихорадочной форме, синтезом IgM и IgA антител и более продолжительным периодом иммунологической реабилитации (Кветкова, 1984). Данные, полученные при тестировании сывороток методами ИФА и ЛИФА (Помелова и др., 2006а), подтверждают эти закономерности (рис. 7.2).

Показано, что при более тяжелой менингеальной форме КЭ (рис. 7.2С) доля сывороток с IgM (70,0 %) была существенно, хотя и не достоверно ($p = 0,389$),



выше по сравнению с лихорадочной формой (59,3 %) уже на первой неделе заболевания; в период с 8-го до 42-го дня доля положительных образцов медленно нарастала от 90,5 до 96,9 %, достигая 100 % на более поздних сроках. При лихорадочной форме КЭ (рис. 7.2В) доля сывороток, положительно реагирующих в ЛИФА, была максимальной (от 83,3 до 85,0 %) в период с 8-го по 42-й день, затем снизилась до 71,4 %. По данным ЛИФА, при лихорадочной форме КЭ средне-геометрический титр (СГТ) IgM антител в положительных пробах составлял 10,5 (9,5–11,9) на первой неделе с максимальным значением 11,9 (10,8–13,5) в период с 8-го по 42-й день и последующим снижением до 10,4 (9,6–11,5) на поздних сроках (рис. 7.2В). При менингеальной форме заболевания СГТ IgM антител на всех сроках заболевания был достоверно выше по сравнению с лихорадочной формой: 13,3 (12,5–14,7) уже на первой неделе, с макси-

Рис. 7.2. Гистограммы, демонстрирующие характер изменения доли положительных сывороток, содержащих IgM антитела к вирусу КЭ, у больных клещевым энцефалитом на разных сроках от начала заболевания: (А) при исследовании методами ЛИФА (косая штриховка) и ИФА (точечная штриховка), в том числе при лихорадочном (В) и менингеальном (С) клиническом течении этого заболевания. Кривые на рисунках А–С показывают динамику СГТ специфических IgM антител в ЛИФА (по данным В.Г. Помеловой и др., 2006а).

По оси абсцисс – срок от начала заболевания, в днях. По оси ординат (слева) – доля положительных сывороток, в %. По оси ординат (справа) – СГТ, в log2.

мальным значением 14,5 (13,7–15,5) на второй неделе, и снижался до 12,3 (11,6–13,4) после 43-го дня (рис. 7.2С).

При смешанной инфекции, обусловленной возбудителями КЭ и ИКБ, характер изменения титров антител к вирусу КЭ не отличается от такового при моноинфекции вирусом КЭ (Субботин и др., 2012). Однако при смешанной инфекции отмечается преобладание уровня специфических противовирусных IgG над уровнем IgM уже на ранних этапах, что характеризует более ранний, чем при изолированном КЭ, переход к вторичному типу иммунного ответа. Особенно быстрая смена синтеза с IgM на IgG к вирусу КЭ наблюдается при эритемной форме ИКБ, что может объяснять случаи более легкого течения КЭ при смешанной инфекции (Якушева, 2003).

При ИКБ на ранней стадии болезни все серологические методы недостаточно чувствительны и только в 20–50 % случаев выявляют IgM (преимущественно) и (или) IgG (Åsbrink et al., 1985; Weber et al., 1990; Hansen, Asbrink, 1989); аналогичные закономерности установлены и при исследовании российских больных ИКБ (табл. 3.8; рис. 3.11). Исключение представляет иммунный ответ к пептиду С6 из белка VlsE (Bacon et al., 2003): у американских пациентов IgG антитела к этому пептиду выявлялись до появления специфических IgM (44 % против 19 % у пациентов в острой стадии заболевания с наличием мигрирующей эритемы или 59 % против 43 % у таких пациентов в стадии реконвалесценции). У европейских больных с типичной мигрирующей эритемой ранний IgG ответ к пептиду С6 наблюдался в 20 из 23 случаев, подтвержденных выделением возбудителя в культуре (87 %); IgM ответ при этом не оценен (Liang et al., 2000). Чувствительность выявления IgG антител у российских больных ИКБ (Помелова и др., 2010в) на первой неделе после начала заболевания составила 55 % в иммуночиповой системе на основе пептида С6 и примерно 40 % в коммерческом тесте фирмы Иммунетикс (раздел 7.5.4, рис. 7.5).

На более поздних стадиях заболевания (Лайм-нейроборрелиоз, атрофический хронический акродерматит, Лайм-артрит и др.) степень серопозитивности возрастает до 70–90 % (Hansen et al., 1988; Wilske et al., 1993; 2007; Wilske, 2002; Philipp et al., 2003; Agüero-Rosenfeld et al., 2005) и даже до 100 % (Hansen, Asbrink, 1995; Johnson et al., 1996; Wilske et al., 1993, 2007), при этом преимущественно выявляются IgG.

По сравнению с нРИФ чувствительность и специфичность ИФА, как правило, выше (Artsob, Garvie, 1991; Соколова и др., 1999; Hunfeld et al., 2002; Christova, 2003; Фризен и др., 2004; Skocir et al., 2008), хотя имеются данные, свидетельствующие о равной (Николенко и др., 2001) или более высокой (например, Wojciechowska-Koszko et al., 2011) чувствительности нРИФ. Однако с учетом известных преимуществ иммуноферментного метода (табл. 7.11) и возможности улучшить показатели его чувствительности и специфичности, в том числе на ранних сроках болезни, за счет включения в состав тест-систем оптимального набора иммунодоминантных антигенов боррелий (Agüero-Rosenfeld et al., 2005; Petersen et al.,

2008), использование этого метода при серологической диагностике заболеваний группы ИКБ предпочтительно (Wilske et al., 2000; Aguero-Rosenfeld et al., 2005; Strle, Stanek, 2009).

Представление о более высокой чувствительности, но меньшей специфичности ИФА (и нРИФ) по сравнению с иммуноблотом, положено в основу двухступенчатого алгоритма диагностики заболеваний группы ИКБ (см. ниже) в США и европейских странах (CDC, 1995; Wilske et al., 2000; Christova, 2003; Brouqui et al., 2004; Skocir et al., 2008). Вместе с тем имеются данные, свидетельствующие об одинаковой (Panelius et al., 2001; Chmielewska-Badora et al., 2006) или даже более высокой чувствительности иммуноблота по сравнению с ИФА и нРИФ (Ruzic-Sabljić et al., 2002; Strle, Stanek, 2009; Wojciechowska-Koszko et al., 2011; Aberer, Schwantzer, 2012), в том числе на ранних сроках заболевания (Aguero-Rosenfeld et al., 1996), а специфичность IgM иммуноблота может быть низкой, всего лишь около 70 % (Seriburi et al., 2011). Подобная «несостыковка» в оценке эффективности серологических методов может быть прямым следствием недостаточной стандартизации тест-систем (см. раздел 7.1.3, табл. 7.1, Ang et al., 2011).

При ГАЧ и МЭЧ, также как при ИКБ, серологические методы на ранней стадии заболевания недостаточно чувствительны и позволяют выявлять IgM (и (или) IgG менее чем в 50 % случаев, причем выявление IgM не сокращает сроки получения положительного результата (Афанасьева М. В., 2006; Dumler et al., 2007; Thomas et al., 2009; Тетерин, 2012; Тетерин и др., 2012). В более поздний период наблюдается нарастание титров антител (Childs et al., 1999). Чувствительность их выявления возрастает уже к концу второй недели болезни, составляя на более поздних сроках не менее 90 % (Афанасьева М. В., 2006; Dumler et al., 2007; Thomas et al., 2009; Тетерин, 2012; Тетерин и др., 2012).

Сравнение ИФА на основе рекомбинантного белка р44 и цельноклеточного иммуноблота показало несколько более низкую чувствительность ИФА (86,8 % против 100 %) (Ijdo et al., 1999). Эти различия могут быть связаны с тем, что рекомбинантный р44 (по сравнению с полосой этого белка в цельноклеточном иммуноблоте) содержит лишь около 70 % полной аминокислотной последовательности (Zhi et al., 1998), и кроме того, в иммуноблоте может выявляться более широкий спектр белков р44 (Ijdo et al., 1997). Специфичность обоих тестов была сопоставима. При сравнении этого варианта ИФА с нРИФ была показана сопоставимая чувствительность, но более высокая специфичность иммуноферментного метода (Tajima et al., 2000); вследствие этого он позволил дифференцировать сыворотки больных ГАЧ людей от проб, полученных от больных МЭЧ, ИКБ и бабезиозом. При этом наблюдалась корреляция между значением оптической плотности в ИФА и титром в нРИФ.

Специфичность. Ложноположительные реакции при серологической диагностике КЭ могут быть результатом перекрестных реакций антител, индуцированных инфицированием другими антигенно родственными флавивирусами, иммунизацией или длительной персистенцией IgM антител (Иерусалимский, 2001; Niedrig et al., 2001; Holzmann, 2003; Mansfield et al., 2011).

При бактериальных инфекциях (ИКБ, ГАЧ, МЭЧ) ложноположительные реакции в тестах на основе цельноклеточных антигенов возбудителей могут быть следствием взаимодействия с белками теплового шока р75 и р60, имеющими гомологию аминокислотных последовательностей с белками, выполняющими сходные функции у ряда грамотрицательных, грамположительных бактерий и микобактерий (Aguero-Rosenfeld et al., 1993; Tajima et al., 2000; Wilske et al., 2000; Wilske, 2002). Появление неспецифических реакций при диагностике ГАЧ и МЭЧ может быть также следствием генетической и антигенной близости возбудителей (Ijdo et al., 1997; Dunning Hotopp et al., 2006). При диагностике ИКБ могут наблюдаться ложноположительные результаты при тестировании сывороток больных сифилисом, пародонтозом, лептоспирозом, туберкулезом и некоторыми вирусными заболеваниями (например, цитомегаловирусная инфекция).

Для повышения специфичности серологической диагностики, особенно с учетом возможного микст-инфицирования, в исследование целесообразно включать антигены родственных возбудителей (и других возбудителей, которые могут передаваться при укусе клеща), а также использовать процедуру предварительного истощения сывороток и подтверждающего тестирования в иммуноблоте; наиболее перспективный современный подход — использование различных комбинаций высокоспецифичных иммунодоминантных белков возбудителей или их полипептидных фрагментов, не содержащих участков аминокислотной цепи, гомологичных антигенным детерминантам других микроорганизмов. Важный фактор повышения специфичности — стандартизация тест-систем и контроль качества исследований (см. раздел 7.1.3).

Ограничения серологических тестов. Даже чувствительные и специфичные серологические тесты, примененные в «правильные» периоды заболевания, не всегда позволяют подтвердить клинический диагноз. Возможные причины ложноотрицательных и ложноположительных результатов перечислены в разделе 7.1.1. В целом серологические результаты могут существенно варьировать, а антитела персистировать даже у успешно леченых пациентов (Dumler et al., 2007; Strle, Stanek, 2009; Удинцева, 2010). До недавнего времени снижение уровня специфических IgG к пептиду С6 рассматривалось в качестве индикатора успешной терапии (Philipp et al., 2003), однако это не было подтверждено (Peltomaa et al., 2003; Fleming et al., 2004).

Практическая целесообразность различных серологических тестов. Клинико-диагностическая лаборатория может опираться только на такие методы, которые не требуют уникального оборудования, регулярно воспроизводимы, обеспечены доступными реагентами и позволяют оперативно исследовать большое число проб (Гайдамович, 1982). С учетом этого каждый из серологических методов (нРИФ, ИФА, иммуноблот), который может быть использован для подтверждения заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, имеет свои преимущества и недостатки (табл. 7.11).

Таблица 7.11. Преимущества и недостатки серологических методов лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

Преимущества	Недостатки	Ссылки
нРИФ		
Высокая чувствительность, простота постановки реакции, быстрое получение результата.	Необходимость культивирования возбудителя для приготовления корпускулярного антигена; трудоемкость; вариабельность в свойствах различных лотов антигенсодержащих клеток; субъективность трактовки результатов; низкая производительность, трудность автоматизации и отсутствие стандартизации; использование цельно-клеточных препаратов может увеличивать уровень ложноположительных реакций вследствие перекрестной антигенной реактивности.	Tajima et al., 2000
ИФА		
Высокая чувствительность; возможность улучшить показатели чувствительности и специфичности, в том числе на ранних сроках болезни, за счет включения в состав тест-систем оптимального набора иммунодоминантных антигенов возбудителей; простота, высокая производительность, возможность автоматизации, наличие корреляции результатов с данными классических серологических методов.	Недостаточная стандартизация коммерческих тест-систем различных производителей, что затрудняет межлабораторное сравнение результатов; отсутствие стандартизованных контрольных материалов с заданным уровнем перекрестной реактивности с различными возбудителями для осуществления контроля качества.	Holzmann et al., 1996; Venturi et al., 2006, 2009; Niedrig et al., 2001, 2007; Hofmann et al., 1983; Ang et al., 2011; Thibodeaux, Roehrig, 2009
Иммуноблот		
Возможность определить спектр специфических антител, синтезируемых у обследованного больного к различным антигенам возбудителей, в том числе на разных стадиях заболевания.	Трудоемкость, высокая стоимость, визуальный учет результатов и субъективная трактовка интенсивности выявляемых полос, что может приводить к получению ложноположительных результатов	Goettner et al., 2005; Aberer, Schwantzer, 2012

С учетом данных, представленных в таблице 7.11, неудивительно, что в настоящее время иммуноферментные тест-системы наиболее широко применяются при подтверждающей серологической диагностике КЭ, ИКБ, ГАЧ и МЭЧ.

Как отмечено ранее (раздел 7.1.2), сочетание ИФА или (реже) нРИФ с иммуноблотом лежит в основе двухступенчатой процедуры тестирования, используемой в США и в ряде европейских стран для диагностики заболеваний группы ИКБ (CDC, 1995; Wilske et al., 2000). Центр по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) рекомендует такой подход как для обследования индивидуальных пациентов (CDC, 1995), так и для эпидемиологического надзора за этим заболеванием (CDC, 1997); двухступенчатый подход рекомендован также для подтверждения диагноза болезни Лайма у пациентов, имеющих отличные от мигрирующей эритемы проявления заболевания (Wormser et al., 2006). На первом этапе обычно используют ИФА-тесты на основе цельноклеточных антигенов боррелий, выращенных *in vitro*. В последние годы в качестве тестов первого этапа в США были

также зарегистрированы иммуноферментные тест-системы на основе пептида С6 фирмы Immunetics (Liang et al., 19996; FDA, 2010) и на основе рекомбинантного белка VlsE из боррелий 2-х геновидов (*B. burgdorferi* и *B. garinii*) фирмы Diasorin (Ledue et al., 2008; FDA, 2010). Чувствительность и специфичность двухступенчатого подхода, за исключением ранних стадий заболевания, обычно высока, однако в целом эта процедура достаточно сложна, технически трудоемка и дорогая. По этим и некоторым другим причинам, упомянутым выше, в практике клинических диагностических лабораторий России она не нашла применения.

Сомнения в целесообразности двухступенчатой процедуры тестирования в последние годы высказывают многие специалисты, прежде всего, клиницисты (ILADS, 2004; DBG Guidelines, 2010; и др.). Они считают, что иммуноблот нельзя использовать в качестве подтверждающего теста, поскольку ИФА и иммуноблот включают разный набор антигенов, что может привести к получению различающихся результатов при обследовании конкретного больного, даже если в целом между используемыми тестами (ИФА и иммуноблот) наблюдается высокая корреляция (Smismans et al., 2006). Другой аргумент «против»: отсутствие единых критериев интерпретации данных и недостаточная стандартизация серологических методов (раздел 7.1.3), прежде всего иммуноблота (раздел 7.3.3), может приводить к получению как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов и невозможности сопоставления результатов тестирования в различных лабораториях (Ang et al., 2011). Вследствие этого значительное число больных остается не диагностированными и не получают необходимого лечения (ILADS, 2004), либо, наоборот, получают ненужную терапию (Seriburi et al., 2011).

Перспективы совершенствования подходов к лабораторной диагностике болезни Лайма, предложенные недавно Институтом медицины США (ИОМ, 2011), включают оценку клинической эффективности тестов на основе пептида С6 в качестве альтернативы двухступенчатой процедуре тестирования. Положительные результаты в этом тесте можно получить раньше, чем в иммуноблоте (Skarpaas et al., 2007), причем ИФА на основе пептида С6 в качестве единственного антигена был достоверно ($p < 0,001$) более чувствительным (66,5 %) по сравнению с двухступенчатой процедурой (35,2 %) при анализе больных с эритемной формой болезни Лайма, хотя и несколько менее специфичным (98,9 % против 99,5 %, $p < 0,05$) (Wormser et al., 2013). Другой подход — разработка мультиплексных тестов, сочетающих высокую чувствительность ИФА и специфичность иммуноблота и обеспечивающих на этой основе повышение надежности серологического тестирования (ИОМ, 2011; раздел 7.5.4). Применительно к лабораторной диагностике заболеваний группы ИКБ наиболее эффективной может оказаться комбинация этих подходов, включающая использование пептида С6 в сочетании с другими пептидными и рекомбинантными антигенами боррелий для построения мультианалитных систем (Помелова и др., 2009б, 2010в, 2013; Porwancher et al., 2011).

Однако независимо от успехов в разработке новых антигенных препаратов и тест-систем, к настоящему времени так и не удалось выявить специфический

биомаркер, позволяющий при однократном тестировании различить активную форму инфекции от перенесенного ранее заболевания и реинфекции (Cameron, 1999; Cetin et al., 2006; Nadelman, Wormser, 2007; Steere et al., 2008). Поэтому лабораторное подтверждение активного инфекционного процесса, обусловленного *B. burgdorferi sensu lato* (и другими инфекциями, передаваемыми иксодовыми клещами), должно базироваться на обследовании парных сывороток, собранных от пациента на разных сроках заболевания (МУ, 1991; раздел 7.1.2, 7.3.5) с использованием современных чувствительных и специфичных иммуноферментных тест-систем и мультиплексных тестов нового поколения (раздел 7.5.4).

7.3.5. Интерпретация результатов серологической диагностики

Сведения, представленные в этом разделе, базируются на анализе нормативно-методических документов Минздрава СССР и России (МУ, 1990, 1991; СП 3.1.3.2352–08), рекомендаций отечественных (Воробьева, 1998; Иерусалимский, 2001; Кветкова, 2004) и зарубежных (CDC, 1995, 2006; Wilske et al., 2000; Brouqui et al., 2004; DBG Guidelines, 2010; ECDC, 2011; Stanek et al., 2012) специалистов.

Результаты серологической диагностики заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, всегда необходимо интерпретировать в связи с клиническими проявлениями, эпидемиологическим анамнезом и сроком от начала заболевания. Следует также учитывать частоту (априорную вероятность) заболевания в данном регионе: при низкой частоте заболевания предсказательная ценность положительного результата низка, то есть высока вероятность гипердиагностики (Gajovic et al., 2010; Johnson, 2011; раздел 7.1.3).

Серологическое подтверждение заболеваний КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ базируется на выявлении специфических антител к возбудителям этих инфекций в острой стадии болезни и установлении факта нарастания титров антител в стадии реконвалесценции. При типичном течении заболеваний такой подход позволяет обнаружить специфические антитела уже на первой неделе (КЭ) или через 2–4 недели (ИКБ, ГАЧ, МЭЧ) после появления клинической симптоматики, выявить изменения в титрах антител на разных сроках болезни, в том числе при проведении антибиотикотерапии, а также сероконверсию специфических IgM и IgG антител. Совокупность этих данных, при использовании высокочувствительных и специфичных тестов, подтверждает наличие активного инфекционного процесса, обусловленного возбудителями этих инфекций.

Отрицательный результат выявления специфических антител не исключает инфицирования возбудителями КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ (см. разделы 3.7, 7.1.1, 7.3.4, 7.4.2) и требует повторного обследования сывороток, собранных на более поздних сроках. В ряде случаев может оказаться полезным дополнительное исследование проб крови от серонегативных пациентов в ПЦР с праймерами, обеспечивающими амплификацию специфической РНК или ДНК возбудителей, а также выделение возбудителя (Grignolo et al., 2001; Coulter et al., 2005; Тетерин

и др., 2010, 2012), установление факта антигенемии (Леонова, Майстровская, 1996; Леонова и др., 1996), определение цитокинового статуса пациента (Леонова, Крылова, 2012).

Положительный результат выявления IgG антител означает, что пациент в определенный отрезок времени был инфицирован возбудителями указанных инфекций. Однако даже высокий титр антител, выявленный при однократном тестировании, не может рассматриваться в качестве индикатора активной инфекции или клинического проявления болезни (за исключением однократного выявления IgM антител на острой стадии КЭ). У здоровых людей серопозитивность нарастает с возрастом и зависит от длительности пребывания на природе (см. разделы 2.5.3, 3.5.2, 4.5; Reimer et al., 1999; Иерусалимский, 2001; Cetin et al., 2006; Dumler et al., 2007; Grzeszczuk et al., 2007 и др.). Первоначально наличие выраженного иммунного ответа на антигены VlsE и С6 рассматривалось в качестве маркера активной инфекции, вызванной *B. burgdorferi sensu lato* (Liang et al., 1999 а, б). Однако в настоящее время установлено, что антитела к этим антигенам могут быть выявлены также у выздоравливающих и здоровых людей, что не позволяет дифференцировать текущую и прошлую инфекцию (Strle, Stanek, 2009).

Стабильный титр специфических антител во всех пробах крови больного, взятых в разные сроки от начала болезни, не является достоверным свидетельством для подтверждения или исключения клинического диагноза. При этом предсказательная ценность положительного результата (см. раздел 7.1.3) тем ниже, чем менее выражена клиническая симптоматика (например, Dumler et al., 2010; Johnson, 2011 и др.). Необходимо, однако, учитывать, что нарастание титров иммуноглобулинов не всегда удается выявить у жителей эндемичных регионов, у которых иммунный ответ часто развивается на фоне предшествующего гуморального иммунитета, сформировавшегося до начала заболевания, а также у длительно болеющих пациентов или при позднем начале обследования (Кветкова, 1984, 2004; Погодина и др., 1986; Ананьева, 1999). Длительное сохранение антител при КЭ и ИКБ может свидетельствовать о хронизации инфекционного процесса (см. разделы 2.6, 2.7, 3.7). В таких случаях значительно большее ретроспективно-диагностическое и благоприятное прогностическое значение имеет не положительная, а отрицательная сероконверсия (МУ, 1990, 1991; Коренберг и др., 2000).

Косвенным показателем длительности заболевания ИКБ может служить спектр антител, выявляемых к различным антигенам боррелий в современных серологических тестах (ИФА, иммуноблот). На ранних сроках выявляются преимущественно IgM, причем к ограниченному набору антигенов (OspC, р41); на более поздних сроках специфические антитела, преимущественно IgG, регистрируются к большему числу антигенов (см. разделы 3.7, 7.3.4). Исключением является пептид С6: ранний гуморальный ответ регистрируется уже через неделю после появления симптомов заболевания и обусловлен преимущественно IgG. Считается, что при поздних проявлениях заболеваний группы ИКБ специфические IgG выявляются практически у всех. Поэтому отрицательный IgG-тест свидетельст-

вует против диагноза этого заболевания, тогда как положительный IgM-тест при отрицательном IgG, скорее всего, является ложноположительным (CDC, 1995; Wilske et al., 2000), хотя описаны случаи повторной продукции IgM при длительной персистенции боррелий (Craft et al., 1986).

7.4. Детекция антигенов или нуклеиновой кислоты возбудителя

7.4.1. Молекулярные методы детекции (ПЦР)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод ферментативного получения ампликонов (большого количества копий) исследуемых фрагментов ДНК путем повторных циклов репликации и денатурации (разделения цепи ДНК на отдельные нити); при этом происходит копирование только исследуемого участка ДНК (при условии его присутствия в исследуемом образце), поскольку только этот участок соответствует заданным условиям.

Ключевые элементы для осуществления ПЦР: (1) молекула ДНК, служащая матрицей и содержащая исследуемый фрагмент; (2) ДНК-полимераза, то есть фермент для производства копий ДНК, и нуклеотиды, используемые ДНК-полимеразой для синтеза ДНК; (3) два праймера ПЦР — короткие сегменты однострессовой нуклеиновой кислоты (обычно это последовательности из 15–20 оснований), комплементарные началу исследуемого фрагмента ДНК; присоединяясь к этому фрагменту, праймеры позволяют запустить синтез ДНК. Методы выявления РНК базируются на сочетании обратной транскрипции РНК (с образованием кДНК) с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР).

Для повышения чувствительности анализа ОТ-ПЦР проводится в вложенном (nested)-варианте с «внешней» и «внутренней» парой олигонуклеотидных праймеров, при этом вторая пара праймеров амплифицирует участок ДНК внутри продукта первой реакции. Чувствительность и специфичность вложенного ПЦР обычно в 100–1000 раз выше по сравнению со стандартной процедурой.

Для детекции продуктов, образующихся после окончания амплификации (ампликонов), используют электрофорез в геле или гибридационный иммуноферментный анализ. Разработанный в начале 1990-х годов метод детекции ампликонов в режиме реального времени (Real-Time PCR, quantitative PCR, qПЦР) позволяет определить количество исходной ДНК-мишени непосредственно в пробе (Higuchi et al., 1993). Для выявления продуктов амплификации в режиме реального времени используют: флуоресцентные маркеры; выщепление 5' концевой метки — TaqMan Assay (Heid et al., 1996); зонды с комплементарными концевыми последовательностями или molecular beacons (Tyagi, Kramer, 1996); зонды с резонансным переносом энергии или LightCycler assay (Bernard et al., 1998); интеркалирующие агенты (Higuchi, 1993). Методические основы постановки ПЦР подробно описаны в ряде руководств (например, «Молекулярная клиническая

диагностика», 1999; «Генетическая инженерия», 2004 и др.). В настоящее время в России зарегистрированы отечественные тест-системы компании Вектор-Бест (г. Новосибирск) на основе ПЦР в режиме реального времени: «РеалБест РНК ВКЭ», «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l.», «РеалБест ДНК *Anaplasma phagocytophilum/Ehrlichia muris, Ehrlichia chaffeensis*».

Детекция РНК вируса КЭ. Материалом для исследования на наличие РНК вируса КЭ служат иксодовые клещи, в том числе снятые с пациентов; сыворотка (плазма) крови и СМЖ пациентов на ранней (виремической) стадии заболевания до начала выработки специфических антител; мозг и другие органы погибших людей.

В тест-системе «РеалБест РНК ВКЭ» в качестве праймеров используются NS3-области вирусного генома, что обеспечивает специфичность выявления РНК вируса КЭ различных штаммов; при этом РНК других флавивирусов, в том числе из антигенной группы вируса КЭ, не выявляются. Также описано применение праймеров, соответствующих фрагментам 5'-некодирующей области, генам С-ргМ-Е-NS1, фрагментам генов Е и NS1 (Карань и др., 2007; Козлова и др., 2012; Hayasaka et al., 2013).

Для исключения ложноположительных результатов, вызванных присутствием в пробе ингибиторов, для детекции и идентификации РНК вируса КЭ разработана ОТ-ПЦР на основе технологии количественной ПЦР в реальном времени с включением внутреннего контроля (Schwaiger & Cassinotti, 2003). Аналитическая чувствительность этой системы — примерно 10 копий РНК-транскрипта.

ОТ-ПЦР позволяет определить подтип вируса КЭ, что важно с учетом возможной циркуляции на одной территории различных подтипов этого вируса (Погодина и др., 1986, 2012; Злобин, Горин, 1996; Вотяков и др., 2002; Гамова и др., 2007; Ruzek et al., 2007; Donoso-Mantke et al., 2007; Achazi et al., 2011; раздел 2.1). Детекция РНК вируса КЭ важна и для раннего дифференциального диагноза КЭ (Saksida et al., 2005; Schultze et al., 2007), особенно в случаях обследования пациентов, проживающих или приехавших из регионов с одновременной циркуляцией нескольких передающихся иксодовыми клещами инфекций. Кроме того, ОТ-ПЦР высокоэффективна при диагностике КЭ у пациентов с задержкой в появлении специфических антител, например при тяжелом течении заболевания, или у умерших вскоре после инфицирования (Gelpi et al., 2006; Schwaiger & Cassinotti, 2003). Перспективное направление — разработка мультиплексной ПЦР для дифференциации подтипов вируса клещевого энцефалита (Ruzek et al., 2007).

Положительный результат ПЦР при выявлении РНК вируса КЭ в иксодовых клещах, снятых с пациентов, — это веский аргумент в пользу необходимости назначения экстренной профилактики с применением специфического иммуноглобулина (Козлова и др., 2007а; СП 3.1.3.2352-08). Отрицательный результат ПЦР при анализе сыворотки или СМЖ пациента не исключает заболевания КЭ и может быть обусловлен коротким периодом виремии, взятием проб в неоптимальные сроки и (или) неправильной подготовкой образцов к исследованию.

Детекция ДНК *B. burgdorferi sensu lato*. Возможность применения ПЦР для изучения патогенеза заболеваний группы болезни Лайма, передачи возбудителя и его биологии впервые показана в 1989 году (Rosa, Schwan, 1989). Методические особенности постановки ПЦР для выявления ДНК *B. burgdorferi sensu lato* подробно описаны в обзорах В. Schmidt (1997) и Y. Yamamoto (2002). Установлено, что чувствительность и специфичность этого метода зависят от выбора ДНК-мишени (матрицы), последовательностей праймеров, методики постановки ПЦР и детекции продуктов амплификации, процедуры экстракции ДНК. Критические факторы для достижения максимальной чувствительности и специфичности ПЦР при детекции ДНК *B. burgdorferi sensu lato* — выбор генов-мишеней и дизайн олигонуклеотидных праймеров, а также методика проведения реакции.

Основные ДНК-мишени — плазмидные гены боррелий, кодирующие синтез поверхностных липопротеинов А и В (OspA и OspB), и хромосомные гены для флагеллина, рибосомальной 16S РНК (rРНК, или rДНК) и 23S rРНК, р66. «Правильные» праймеры должны обеспечивать возможность эффективной амплификации всех штаммов *B. burgdorferi sensu lato* и давать ампликоны размером от 100 до 300 пар оснований (Schmidt, 1997). Сравнение вариантов ПЦР на основе указанных праймеров показало сопоставимую (Picha et al., 2008) или более высокую чувствительность при использовании 16S rДНК по сравнению с другими праймерами (Moravcova et al., 2009). Благодаря высокой специфичности ПЦР позволяет детектировать и идентифицировать геновиды *B. burgdorferi sensu lato* (Marconi & Garon, 1992; Cyr et al., 2005) с последующей идентификацией при необходимости продуктов ПЦР секвенированием ДНК с использованием алгоритмов выравнивания относительно возможных данных GenBank (Lee et al., 2010a), гибридизации к видоспецифичным пробам, анализа полиморфизма длин фрагментов рестрикции (Chmielewski et al., 2003) и некоторых других методов. Вместе с тем в отдельных случаях могут наблюдаться ложноположительные результаты (Molloy et al., 2001).

Использование праймеров, соответствующих концам генов 5S и 23S рибосомальной РНК (Postic et al., 1994), позволяет избежать перекрестных реакций даже с близкородственными спирохетами, так как межгенный спейсер rrf (5S) — rrl (23S) присутствует только у представителей комплекса *B. burgdorferi sensu lato*. Это обеспечивает возможность изучения генетической гетерогенности и выявления генетических вариантов спирохет, циркулирующих в природных очагах России и сопредельных стран (раздел 3.2.2; Derdakova et al., 2003; Нефедова и др., 2005а, б, 2010; Фадеева и др., 2005; Coipan et al., 2013), видовой идентификации боррелий в положительных пробах (Postic et al., 1994; Busch et al., 1996; Livanova et al., 2003; Фадеева и др., 2005; Rar et al., 2005; Фоменко и др., 2006; Нефедова и др., 2008), дифференциации реинфекции от рецидива той же инфекции при болезни Лайма (Nadelman et al., 2012). Следует однако помнить, что выявление генетического материала в клинических и полевых материалах только при наличии изолята подтверждает роль возбудителя в этиологии заболевания и как компонента

паразитарной экосистемы (см. раздел 7.4.4). Основные итоги генотипирования боррелий в России суммированы Э.И. Коренбергом и др. (2006б).

Для качественного выявления ДНК *B. burgdorferi sensu lato* применяются стандартная ПЦР и нестед-ПЦР (ссылки из обзора Schmidt, 1997; Aguero-Rosenfeld et al., 2005), для количественных измерений — ПЦР в реальном времени (Pahl et al., 1999; Morrison et al., 1999). qПЦР используют для непосредственного измерения количества конкретного ПЦР продукта в каждом цикле реакции. Ее чувствительность сопоставима с чувствительностью нестед-ПЦР и составляет 1–10 фг ДНК, или от 1 до 5 культивируемых спирохет в пробе (Gooskens et al., 2006); в пересчете на объем амплификационной смеси чувствительность нестед-ПЦР — до 1000 спирохет в 1 мл биологической жидкости (Lee et al., 2010б). С учетом возможно низкой концентрации боррелий в разных биологических субстратах, такой уровень чувствительности не всегда достаточен для эффективного выявления возбудителя в клинических образцах (см. раздел 7.4.3).

Для повышения чувствительности и специфичности ПЦР при диагностике ИКБ рекомендуется использовать как минимум две пары праймеров на хромосомные и плазмидные последовательности генов в сочетании с параллельным тестированием нескольких биологических субстратов (Priem et al., 1997; Moravcova et al., 2009), а также подходы, включающие использование увеличенного объема крови для экстракции ДНК, предварительное культивирование изолята до постановки ПЦР (Chmielewski et al., 2003), использование qПЦР или нестед-ПЦР вместо стандартной методики (Lee et al., 2010а; Eshoo et al., 2012), оптимизацию методик экстракции ДНК (Eshoo et al., 2012). Комбинация нескольких из перечисленных выше молекулярно-биологических приемов (проведение мультилокусной ПЦР в предварительно обогащенном экстракте методом изотермальной амплификации ДНК с детекцией ампликонов методом масс-спектрометрии) реализована в методике одновременного выявления и генотипирования *Borrelia burgdorferi* непосредственно из цельной крови пациента на ранней эритемной стадии заболевания (Eshoo et al., 2012). По мнению авторов, такой подход может применяться для исследования и других проб (ткань, СМЖ, сыворотка, плазма, синовиальная жидкость).

Детекция ДНК возбудителей ГАЧ и МЭЧ. Детекция возбудителя ГАЧ базируется на выявлении последовательностей генов *16S rPHK*, *groESL*, *ankA*, *msp2*, *msp4* (ссылки из обзора Fenollar et al., 2007; Rymaszewska, 2011); при диагностике МЭЧ — на выявлении последовательностей генов *16S rPHK* (Anderson et al., 1992), *groESL* (Sumner et al., 1997, 1999), *TRP120* (Sumner et al., 1999), а также мультигенов семейства *p28* (Wagner et al., 2004) и *nadA*.

Подробная информация о применении метода ПЦР для изучения внутривидового разнообразия анаплазм представлена в разделе 4.2.2. Наиболее часто используют набор праймеров для амплификации гена *16S rPHK*, который по данным базы GenBank включает по крайней мере 7 генетических вариантов анаплазм, отличающихся по расположенному вблизи 5' конца вариабельному участку (Сао

et al., 2003). Сопоставимые по чувствительности и специфичности результаты получены при использовании вариантов ПЦР для детекции генов *16S rPHK*, *TRP32*, *groESL* (Childs et al., 1999) или *16S rPHK*, *TRP120* и *nadA* (Olano et al., 2003). В целом эффективность ПЦР зависит в значительной степени от того, какой участок гена используется для амплификации (Rymaszewska, 2011).

Для повышения чувствительности выявления возбудителей ГАЧ и МЭЧ методом ПЦР используют нестед-ПЦР (Anderson et al., 1991; Comer et al., 1999; Lotric-Furlan et al., 1998; Sumner et al., 1997; Massung et al., 1998), ПЦР в реальном времени (Loftis et al., 2003; Bell, Patel, 2005; Doyle et al., 2005), простой и быстрый метод ПЦР на основе изотермальной амплификации (Lee et al., 2012), а также мультиплексную ПЦР, обеспечивающую одновременное определение нескольких возбудителей (Courtney et al., 2004; Sirigireddy, Ganta, 2005; Eshoo et al., 2010). Аналитическая чувствительность разных вариантов ПЦР составила 10 геномокопий (Loftis et al., 2003); 50 микробных клеток (Doyle et al., 2005; Sirigireddy, Ganta, 2005); от 10 до более 1000 геномов/ПЦР, что соответствовало стартовой концентрации от $2,75 \times 10^3$ до $>2,75 \times 10^5$ геномов *Ehrlichia* в 1 мл клинического образца при условии 100 % эффективности экстракции нуклеиновой кислоты (Eshoo et al., 2010).

Детекция спектра ДНК возбудителей. С учетом высокой вероятности микст-инфицирования переносчиков и возникновения смешанных инфекций (Kogenberg et al., 1999; Коренберг, 2001) необходим комплексный подход к выявлению спектра возбудителей при обследовании как иксодовых клещей, так и материалов от больных людей (раздел 5.7). С этой целью при постановке ПЦР используют набор праймеров для индикации специфической ДНК микроорганизмов определенного вида с возможным при необходимости последующим секвенированием ампликонов и сопоставлением последовательности нуклеотидов на анализируемом участке генома с данными GenBank.

Так, Schouls et al. (1999) применили ПЦР в сочетании с линейным блотом на основе олигонуклеотидных зондов для выявления и идентификации эрлихий, боррелий и бартонелл в клещах *I. ricinus*. Возможность микст-инфицирования клещей *I. persulcatus*, собранных в природном очаге на территории Пермского края, возбудителями риккетсий, эрлихий (*E. muris*) и флавивирусами (предположительно, вирусом КЭ) продемонстрирована Popov et al. (2007). Генотипирование ДНК *A. phagocytophilum* и *E. muris* в клещах *I. persulcatus* и крови больных людей позволило подтвердить диагноз ГАЧ и МЭЧ, поставленный пациентам предварительно на основе клинико-серологических данных (Нефедова и др., 2008).

Для одновременного быстрого выявления и идентификации широкого спектра возбудителей непосредственно в клинических образцах (кровь) описан вариант мультилокусной ПЦР для выявления и видовой идентификации эрлихий (Eshoo et al., 2010). Продукты амплификации определяли методом масс-спектрометрии на основе электроспрей-ионизации. Из 16 использованных в работе пар праймеров 4 выявляли рибосомальные *16S* и *23S* гены бактерий, остальные — консервативные гены, кодирующие белки, способные дифференцировать извест-

ные бактерии, передающиеся клещами. Для количественных оценок использовали синтетический внутренний калибратор. Диагностическая чувствительность составила 95 %, специфичность — 98,8 % по сравнению с двухступенчатой ПЦР с колориметрической детекцией, позволяющей осуществить видоспецифическую идентификацию *E. chaffeensis*, *E. ewingii* и *A. phagocytophilum* (Doyle et al., 2005).

7.4.2. Детекция антигенов вируса КЭ

Материалом для обследования на наличие антигенов вируса КЭ служат иксодовые клещи, в том числе снятые с пациентов, а также сыворотка (плазма) крови и СМЖ больных людей. Наиболее часто для детекции вирусспецифических антигенов используют метод иммуноферментного анализа. В настоящее время в России зарегистрированы отечественные иммуноферментные тест-системы «ВектоВКЭ-антиген» (ООО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), «БиоСкрин-КЭ (Ag)» (ЗАО БТК «Биосервис», Москва), «Тест-система иммуноферментная для выявления антигена вируса клещевого энцефалита» [Микроген НПО ФГУП (НПО «Вирион» г. Томск)].

Положительный результат ИФА при выявлении антигенов вируса КЭ в иксодовых клещах, снятых с пациентов, как и в случае выявления вирусной РНК, — аргумент в пользу необходимости назначения экстренной профилактики с применением специфического иммуноглобулина (СП 3.1.3.2352–08; раздел 7.4.1). Такой подход базируется на данных о высокой чувствительности ИФА при выявлении вирусспецифических антигенов в клещах в сравнении с классическим методом биопроб на новорожденных белых мышах и культуре клеток СПЭВ (Субботина и др., 1986; Лаврова, Наволокин, 1986). Ввиду того, что ИФА определяет не только инфекционный, но и инактивированный вирус, а также вирус с измененными биологическими свойствами, при исследовании биоматериала положительные показатели в ИФА, как правило, выше, чем при индикации вируса методом биопробы, способным выявлять до 1 БОЕ вируса (Мансуров и др., 1989; Наволокин и др., 1989). Данные многолетних исследований показывают, что на основании определения количества антигена вируса КЭ в присосавшемся клеще можно не только оценивать риск заражения человека, но и судить о вероятности развития клинически манифестирующегося заболевания КЭ (Пеньевская, 2008).

Выявление вирусспецифических антигенов в лейкоцитарной массе гепаринизированной крови рассматривают как способ экспресс-диагностики КЭ (Леонова и др., 2003). Комплексное выявление антигена в ИФА и РНК в ПЦР, а также выделение вируса КЭ из лейкоцитов крови человека с первого дня после присасывания клеща обеспечивает раннюю верификацию диагноза клещевого энцефалита (Леонова, Борисевич, 2001; Леонова, Павленко, 2007).

Антигены вируса КЭ выявляются методом ИФА значительно чаще в крови людей, укушенных клещом, но оставшихся здоровыми, чем в крови заболевших после укуса клеща пациентов (Леонова, Майстровская, 1996; Леонова и др., 1996).

Это подтверждает, что инapparантная и стертые лихорадочные формы инфицирования вирусом КЭ распространены намного шире, чем случаи манифестного проявления инфекции (раздел 2.5.4). При этом у половины из числа укушенных клещами инфицированных людей без симптомов болезни антигенемия вируса КЭ не сопровождается сероконверсией с выявлением противовирусных антител.

Учет продолжительности бессимптомной антигенемии вируса КЭ — это важная практическая задача, позволяющая правильно оценить эпидемическую обстановку, прогнозировать исход инфицирования этим вирусом, установить происхождение иммунологических нарушений у лиц, длительно проживающих на эндемичной территории (Жукова, 1999). Предложен способ прогнозирования длительности периода антигенемии вируса КЭ на основе оценки уровня спонтанной и индуцированной продукции цитокинов IFN- γ и IL-4 в самом начале инфицирования этим вирусом до введения специфического иммуноглобулина (Леонова, Крылова, 2012). Учет уровня антигенов вируса КЭ в крови в сочетании с определением показателей специфического гуморального иммунного ответа (антитела классов IgM, IgG), а также неврологического и иммунного статуса, используют при оценке эффективности лечения КЭ (Лепехин и др., 1998).

Помимо ИФА для индикации антигена вируса КЭ в крови инфицированных и больных пациентов при острой и хронической форме КЭ предложен более чувствительный и быстрый метод коаггутинации, основанный на использовании белка А золотистого стафилококка в качестве носителя специфических антител (Подоплека и др., 2005; Тарасенко и Орлова, 2004). Совместное использование этого теста и ИФА позволило авторам повысить эффективность выявления антигена более чем в 2 раза. В последние годы разрабатываются мультиплексные методы для одновременного определения антигенов нескольких арбовирусов. Так, продемонстрирована сопоставимая чувствительность и специфичность мультиплексного ИФА на основе моноклональных антител и обычных вариантов ИФА при детекции пяти арбовирусов, в том числе вируса КЭ (Kang et al., 2012; раздел 7.5.3).

7.4.3. Чувствительность, специфичность, ограничения, практическая целесообразность применения молекулярных методов

Хотя теоретически чувствительность метода ПЦР очень высока (до 10 микробных клеток в пробе), однако при исследовании клинических образцов она часто оказывается недостаточной (Holzmann, 2003; Aguero-Rosenfeld et al., 2005; Santino et al., 2008; Eshoo et al., 2012). Помимо причин методического характера, негативно влияющих на уровень чувствительности (например потери ДНК при экстракции, присутствие в пробе ингибиторов, деградация ДНК при транспортировке и хранении и т.п.), существуют и объективные факторы, прежде всего обусловленные низкой концентрацией возбудителей (например в случае боррелий — не выше 50 клеток/мл) в инфицированных тканях и жидкостях пациентов (Goodman et al., 1991; Schwaiger et al., 2001; Liveris et al., 2002). В результате

успех выявления РНК/ДНК в биологических субстратах зависит скорее от уровня истинной вирусемии/бактериемии, чем от ограничений по чувствительности метода ПЦР (Eshoo et al., 2012).

Так, попытки выявить РНК ВКЭ в острой фазе заболевания часто оказываются безуспешными (Holzmann, 2003), поскольку пациенты поступают в стационар, как правило, после появления неврологических симптомов, когда вирус уже отсутствует в крови (нередко и в СМЖ). При заболеваниях группы ИКБ наиболее высокая эффективность ПЦР установлена при анализе синовиальной жидкости больных Лайм-артритами и кожных биоптатов больных с эритемной формой болезни (79% и 69%, соответственно), для которых показано высокое (10000 клеток/мл и выше) содержание боррелий (Schwaiger et al., 2001; Liveris et al., 2002). В то же время показатель чувствительности при выявлении ДНК боррелий в крови (в среднем 14%, диапазон от 0 до 100%) и спинномозговой жидкости (в среднем 38%, диапазон от 12 до 100%) может быть существенно ниже в связи с низким содержанием боррелий (ссылки из обзора Agüero-Rosenfeld et al., 2005) и в значительной степени зависит от степени диссеминации возбудителя (Goodman et al., 1995). В российском исследовании (Тетерин и др., 2010), однако, частота выявления ДНК *B. burgdorferi sensu lato* у пациентов с симптомами заболевания была лишь незначительно выше при диссеминированной стадии ИКБ, чем при локализованной.

В настоящее время метод ПЦР рассматривают как дополнительный к серологии перспективный метод (Oksi et al., 1995; Lee et al., 2010a, б; Тетерин и др., 2010; и др.). Его применение особенно целесообразно на ранней серонегативной стадии заболевания до получения регистрируемого серологического ответа, а также в случаях, когда серологические методы дают неубедительные результаты (Childs et al., 1999; Dumler et al., 2007; Thomas et al., 2009; Schwarzova et al., 2009; Eshoo et al., 2012). Однократное тестирование методом ПЦР (в случае положительного результата) рассматривают как однозначное подтверждение этиологии инфекции, не требующее повторного визита к врачу (Brouqui et al., 2004; Eshoo et al., 2012). С учетом этого чрезвычайно важно принимать во внимание эффективность методов ПЦР и серологического тестирования на разных сроках заболеваний, передающихся иксодовыми клещами.

При КЭ подтверждение клинического диагноза в основном базируется на применении ИФА для высокочувствительного выявления IgM антител на ранней стадии болезни (раздел 7.3.2). Однако известны примеры эффективного использования ОТ-ПЦР до начала сероконверсии или у пациентов с наличием IgM, но не IgG (Puchhammer-Stöckl et al., 1995; Günther et al., 1997).

Оптимальный срок применения ПЦР для подтверждения острой стадии заболевания ИКБ — ранний период от начала болезни (Agüero-Rosenfeld et al., 2005). В российском исследовании (Тетерин и др., 2010), проведенном на репрезентативной выборке проб крови от больных ИКБ, чувствительность ПЦР оказалась наиболее высокой на второй неделе ($69,9 \pm 9,5\%$), что совпало с оптимальными сроками

изоляции боррелий из крови пациентов культуральным методом, т.е. со сроками наиболее выраженной боррелиемии (Maraspin et al., 2001; Нефедова и др., 2009; Nowakowski et al., 2009). В целом данные о соответствии между результатами выявления антител к *B. burgdorferi sensu lato* и детекции ДНК возбудителя в ПЦР противоречивы (Kondrusik et al., 2004, 2007; Santino et al., 2008; Lee et al., 2010б). Показано отсутствие корреляции между результатами выявления антител при проведении двухступенчатого серологического тестирования и детекции ДНК в нестед-ПЦР, эффективность которой оказалось очень низкой (Lee et al., 2010а, б). В другом исследовании (Фоменко и др., 2006) удалось обнаружить ДНК лишь в 28,7% проб крови от больных с эритемной формой ИКБ, при этом титры антител были выше у пациентов, у которых ДНК не выявлена. Сравнивая эти данные, нужно принимать во внимание, что сроки максимальных уровней боррелиемии и антителоемии во многом не совпадают. С другой стороны, продемонстрирована существенно более высокая чувствительность ПЦР по сравнению с отечественной ИФА-тест-системой вплоть до 21-го дня от начала заболевания ИКБ (Тетерин и др., 2010), и наличие ДНК и в серонегативных пробах (Schwarzova et al., 2009). Такие результаты, разумеется, в значительной мере зависят от чувствительности тест-системы, применяемой для серологических исследований (например, Помелова и др., 2013).

ПЦР при подтверждающей диагностике ГАЧ одинаково эффективна (чувствительность не менее 67%) в течение первой и второй недель (Dumler et al., 2007) и даже на более поздних, до 66-го дня (Тетерин и др., 2012), сроках после начала заболевания. Чувствительность ПЦР при выявлении возбудителя МЭЧ на первой неделе болезни также высока: от 60 до 85% (Dumler et al., 2007). Установлено, что эффективность ПЦР в первые 7 дней болезни существенно выше, чем возможность выявления антител к возбудителям ГАЧ или МЭЧ серологическими методами, что обуславливает целесообразность применения метода ПЦР для верификации диагноза этих заболеваний в указанный период (Dumler et al., 2007). Аналогичные выводы в отношении ГАЧ сделаны при сопоставлении эффективности ПЦР и ИФА (Тетерин и др., 2012).

Преимущества ПЦР: высокая чувствительность; количественная ПЦР в реальном времени обеспечивает быструю и точную информацию о генах-мишенях, характеризуется высокой производительностью, легко поддается автоматизации.

Недостатки в применении ПЦР и технологии прямого автоматического секвенирования связаны с высокой стоимостью подготовки проб и очистки ДНК, а также с необходимостью подготовки высококвалифицированного персонала для постановки и учета результатов ПЦР. В целом метод ПЦР недостаточно стандартизован и находится в стадии разработки (Nolte, 2012; и др.). Необходима стандартизация методов прямого выделения ДНК и включение подходящих групп пациентов для оценки чувствительности и специфичности этого метода (Serar et al., 2008). Отсутствие коммерческих тестов стандартного качества является одной из причин, почему ОТ-ПЦР до сих пор широко не используется для лабораторной диагностики КЭ (Donoso-Mantke et al., 2007а).

Ограничения: отрицательный результат ПЦР не исключает диагноза КЭ, ИКБ, ГАЧ или МЭЧ, поскольку в острой стадии этих заболеваний период циркуляции возбудителей в крови больного непродолжителен, а эффективность выявления РНК/ДНК методом ПЦР напрямую зависит от концентрации возбудителя и срока от начала заболевания. Положительный результат ПЦР свидетельствует о факте инфицирования пациента, однако не может служить однозначным подтверждением активности инфекционного процесса (Stanek et al., 2011), поскольку возможно выявление нуклеиновой кислоты как жизнеспособных, так и утративших инфекционный потенциал возбудителей.

7.4.4. Проблемы оценки положительных результатов

Широчайший интерес к природноочаговым зоонозам, к их эпизоотологии и эпидемиологии, вызванный открытием многих неизвестных ранее возбудителей и нарастающей интенсивностью эпидемических проявлений природных очагов, совпал с расширением арсенала современных молекулярно-биологических методов, применяющихся сейчас для их изучения и диагностики. ДНК-ДНК гибридизация, плазмидный анализ, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее модификации, включая ПЦР в режиме реального времени, полиморфизм длины фрагментов рестрикции (ПЦР-ПДРФ), анализ числа переменных локусных тандемных повторов (MLVA — multiple locus variable number tandem repeats analysis), секвенирование генома или, чаще, его различных участков, мультилокусный сиквенс анализ (MLSA или МЛСА) и другие молекулярно-биологические методы, несомненно, открыли совершенно новые возможности для исследования феномена природной очаговости. Их активное применение в этих целях не только в научных исследованиях, но и в современной практической диагностической работе лабораторий санэпидслужбы и клинических стационаров (Материалы, 2012) — очень отрадное явление. В конечном счете оно выведет изучение паразитарных систем на совершенно другой уровень.

Вместе с тем приходится констатировать, что появилась некоторая эйфория, основанная на убеждении, что эти методы сами по себе прояснят ключевые проблемы эпизоотологии и эпидемиологии природноочаговых инфекций. Явственно высветились «болевые точки» и «подводные камни», возникающие при их применении и недостаточно продуманной трактовке полученных результатов (Коренберг, 2010). Как и в случаях с лекарственными препаратами, это надежду явно или скрыто поддерживают производители различных тест-систем. Возникшее словосочетание «молекулярная эпидемиология» природноочаговых инфекций по существу представляет собой смешение понятий «метод» и «наука» (Шкарин и др., 2010). Положительные результаты, полученные методом ПЦР, стали своеобразной индульгенцией для совершенно неадекватных заключений, а «ампликоновая» система доказательств слишком часто сочетается с забвением или игнорированием сути ряда базовых понятий эпизоотологии и эпидемиологии. Недооценка этой

проблемы приводит к быстрому накоплению «информационного шума». В этой связи уместно напомнить о беспокойстве Н.П. Дубинина (1992, С. 367), выраженном применительно к общим проблемам генетики еще 20 лет назад: «Необходимость использования физико-химических и биохимических методов привела к тому, что разрабатывать проблему молекулярной генетики стали «чистые» биохимики. Это было полезно, но одновременно послужило появлению неправильных суждений о задачах генетики в целом, привело к однобокости в понимании характера значимости работ по общей генетике».

Цель данного раздела как части главы о детекции антигенов или нуклеиновых кислот возбудителей — в самой общей форме, не излагая множества впечатляющих исследований, в которых выводы совершенно адекватны результатам примененных методов, на конкретных примерах обозначить особенно распространенные «перегибы» в трактовках и заключениях. Как правило, они остаются без внимания при обсуждении результатов. Большие возможности, которые открывает применение молекулярно-биологических методов для решения важных проблем эпизоотологии и эпидемиологии природноочаговых инфекций, уже были обозначены (Коренберг, 2010, 2012).

Молекулярно-биологические методы в систематике и таксономии возбудителей природноочаговых инфекций. Предложены и продолжают обсуждаться критерии отличий нуклеотидных последовательностей определенных генов и их таксономическое значение, на основе которых описаны новые виды или варианты возбудителей (Ананьина, Самсонова, 2000; Fournier et al., 2003; Baranton, Postic, 2006; Postic et al., 2007; Fingerle et al., 2008; Kugeler et al., 2008; Rudenko et al., 2009; Schwan et al., 2009; Cutler et al., 2010 и др.). В целом начали «выкристаллизовываться» современные принципы классификации некоторых представителей патогенных прокариот и определения границ прокариотического вида (Грачева и др., 2009). Однако нужно учитывать, что обработка данных о структуре генома и построение дендрограмм программно-математическими способами — это лишь условная математическая модель (Деконенко, Ткаченко, 2009). В ряде случаев она дает впечатляющие результаты (пример уточнения таксономического ранга *V. recurrentis* приведен в разделе 1.3). Тем не менее современные молекулярные методы сами по себе — это по ряду причин не лучший путь познания родства между различными таксонами микроорганизмов (Martin, Embley, 2004). Однако при обосновании видового таксономического ранга вновь описываемых микроорганизмов именно такой подход стал не просто главенствующим, но и практически единственным (Relman, 2002). При этом полагают, что если полученная последовательность нуклеотидов ДНК или РНК не соответствует ни одной из депонированных в GenBank или иную базу генетических данных, то она в таксономическом отношении представляет собой что-то новое. Такой предельно упрощенный подход имеет ряд очевидных недостатков (Telford III, Goethert, 2004).

В последние годы прибегают к сравнению результатов секвенирования локусов нескольких генов (их набор может быть различным, но обычно включает так

называемые гены «домашнего хозяйства») с сиквенсами аналогичных локусов уже известных видов. Этот подход называют мультилокусным сиквенс-анализом, и он применяется, например, при описании новых видов, при изучении таксономии, филогении, эволюции и внутривидовой «разнокачественности» микроорганизмов (Baranton, Postic, 2006; Richter et al., 2006; Fingerle et al., 2008; Rudenko et al., 2009; Zeman, Jahn, 2009; Margos et al., 2010, 2011 и др.). Его преимуществом по сравнению с выводами, которые прежде основывали на сравнении нуклеотидных последовательностей переменных участков одного-двух генов, считают большую объективность. Однако отсутствуют научные обоснования количества и конкретного набора генов, локусы которых следует секвенировать при изучении таксономии микроорганизмов определенного рода, включающего (реально или потенциально) возбудителей природноочаговых инфекций. Кроме того, важно учитывать, что возбудители зоонозов — это лишь часть известных сегодня микроорганизмов любой таксономической группы, к которой они принадлежат, и которая, как правило, включает и непатогенные формы (Коренберг, 2005, 2006а). Только за последние годы, благодаря исследованиям, проведенным с использованием молекулярно-биологических методов, описаны такие неизвестные ранее формы, близкие к вирусу Западного Нила, возбудителям риккетсиозов клещевой группы, эрлихиозов, анаплазмоза, боррелиозов, бартонеллезов, туляремии и др.

Множеству микроорганизмов, существующих в естественных экосистемах, совершенно не нужна патогенность для человека. Это свойство возникает у них в значительной степени случайно в процессе адаптаций к природным биотическим и абиотическим условиям существования (раздел 1.3). Трудно предугадать, сколько непатогенных и патогенных форм микроорганизмов определенной таксономической группы еще будет вновь описано, и в чем конкретно будет заключаться видоспецифичность структуры их генома. В результате сегодняшний подбор генов для МЛСА с целью описания новых видов уже завтра может оказаться нерезультативным. Поэтому все настойчивее раздаются призывы использовать наряду с генетическими критериями физиологические и экологические (Telford III, Goethert, 2004). Такой подход довольно давно получил название «полифазной таксономии» (Colwell, 1970, Gillis et al., 2001).

Остановимся на его значении на примере рода *Borrelia*, который давно известен по спирохетам, экологически связанным с аргасовыми клещами (*Argasidae*) и вызывающими заболевания группы АКБ. Внутри рода *Borrelia* существует вторая довольно обширная таксономическая группа боррелий — *B. burgdorferi sensu lato*, которая экологически связана с иксодовыми клещами (*Ixodidae*). Часть из них патогенна для человека и вызывает ИКБ (раздел 3.2.1).

В 1995 г. в Японии описана *B. miyamotoi* (Fukunaga et al., 1995). Эта спирохета привлекает особый интерес исследователей, поскольку она экологически связана с иксодовыми клещами, а по структуре генома значительно ближе к группе боррелий, передающихся аргасовыми клещами (Rich et al., 2001; Bunikis et al., 2004).

Вскоре после описания *B. miyamotoi*, было высказано предположение, что это представитель самостоятельной филогенетической ветви современных боррелий. Более того, уже тогда стало понятно, что будут описаны новые виды спирохет, близкие по своим эколого-генетическим характеристикам к *B. miyamotoi* (Коренберг, 1996). В дальнейшем так и произошло. Сегодня уже можно говорить о существовании относительно самостоятельной группы видов спирохет, которую в англоязычной научной литературе называют «relapsing fever-like spirochetes», или о комплексе *B. miyamotoi sensu lato* (Richter et al., 2003; Ullman et al., 2005; Mun et al., 2006; Коренберг, Нефедова, 2010 и др.). Помимо *B. miyamotoi sensu stricto*, в него входят несколько уже известных видов боррелий (*B. lonestari*, *B. barbouri*, *B. theileri*), которые передаются иксодовыми клещами родов *Amblyomma*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, и, что особенно важно, по всей видимости, ряд пока еще неизвестных видов, патогенных или, скорее, непатогенных для человека. По совокупности генетических, биологических, культуральных, эколого-паразитологических, патогенетических и иных признаков эти спирохеты отличаются от возбудителей АКБ (или «relapsing fever spirochetes») группы, к которой их вряд ли следует причислять (раздел 3.2.1). Поверхностный белок GlpQ, присутствующий у боррелий АКБ группы, может быть использован в качестве антигена для их серологической дифференциации от боррелий, вызывающих Лайм боррелиоз (Schwan et al., 1996). Но наличие у боррелий гена *glpQ*, как и некоторые структуры рибосомального гена 16S, исходя из имеющихся сегодня данных, позволяют лишь с определенной степенью достоверности судить об их близости к группе АКБ (Halperin et al., 2006; Oshaghi et al., 2011), поскольку этими признаками, по всей видимости, не исчерпываются критерии для внутривидовой таксономии рода *Borrelia*. Показательно в этой связи, что в современном перечне боррелий АКБ группы *B. miyamotoi* отсутствует (Oshaghi et al., 2011). Поэтому, на наш взгляд, несколько поспешно и ошибочно относить эту спирохету к АКБ группе, как это делают некоторые исследователи (Платонов и др., 2010; Фоменко и др., 2010а, 2011; Platonov et al., 2011; Фоменко, 2011). Настораживает, что не удалось получить на территории нашей страны изолят *B. miyamotoi*, закрепить (сохранить) его (Ливанова и др., 2010; Фоменко и др., 2010, 2010а), как это принято в микробиологии, и официально депонировать в соответствующий музей боррелий. Это полностью исключает возможность дальнейших всесторонних микробиологических исследований обнаруженных спирохет, в том числе и современными молекулярно-биологическими методами, которые открывают большие возможности.

Своего рода «золотым стандартом» микробиологии было, есть и будет наличие изолята, и это ни в коей мере не противоречит необходимости и перспективам применения современных молекулярно-биологических методов (Коренберг и др., 2006). Переоценивая таксономическое значение результатов, полученных путем выделения ДНК из различных биоматериалов и последующего секвенирования ограниченных по размеру ПЦР-продуктов, исследователи, по сути дела, хотят, чтобы им верили на слово. Если «в руках» нет закрепленного изолята, та-

кой набор доказательств совершенно не соответствует сложившимся «азам» микробиологической таксономии. В связи с появлением виртуальных баз данных хорошо известное значение музеев живых культур для изучения микроорганизмов не только не ослабевает, но даже увеличивается. Они дают возможность возвращаться к их анализу или более детальному изучению по мере совершенствования молекулярно-генетических методов. Тем более, что эти методы, открывая исследователям большие возможности, сами по себе не избавляют от риска лабораторной контаминации, технических погрешностей на разных этапах выделения и изучения нуклеиновых кислот и субъективизма при оценке полученных результатов (Коренберг и др., 2006б; Korenberg et al., 2006). Демонстративный пример в этом отношении — обнаруженный недавно генетический полиморфизм классического типового штамма «Софьин» вируса КЭ (Kovalev et al., 2012), который несколько десятков лет использовали многие вирусологи в самых различных исследованиях. Разумеется, конкретные данные авторов цитируемой «сенсационной» публикации нуждаются в подтверждении, но они, несомненно, правы в том, что нужно произвести ревизию генетической структуры всех соответствующих коллекционных штаммов.

Отличия изолятов возбудителя по характеру последовательностей варибельного участка гена, чаще всего кодирующего тот или иной поверхностный белок, не имеют внутривидового таксономического значения. Такая гетерогенность в большинстве случаев отражает процессы адаптивной изменчивости генетической структуры популяции микроорганизма под влиянием меняющихся условий среды (Коренберг, 2012; Раздел 3.2.2; и др.).

Молекулярно-биологические методы при индикации природных очагов и оценке роли животных в циркуляции возбудителей. Применение молекулярно-биологических методов открыло большие дополнительные возможности для выявления самого факта существования различных возбудителей (т.е. природных очагов) на определенной территории. Число таких публикаций в зарубежных и отечественных журналах стремительно нарастает, а абстрактов и тезисов на различных конференциях, включая международные, уже исчисляется сотнями. Как полагают, для выявления природного очага достаточно обнаружить специфичный генетический материал возбудителя (РНК или ДНК) в любом биоматериале или в пробах, взятых из внешней среды. Таким образом, достоверность результатов зависит, прежде всего, от специфичности методики исследования, что особенно важно, когда речь идет о микроорганизмах, которые впервые индицированы в данном географическом регионе. Например, для одновременной индикации и идентификации боррелий до комплекса *B. burgdorferi sensu lato* наиболее чувствительный и специфичный молекулярный маркер — *fla* ген (Wodecka et al., 2010). Поскольку велика вероятность наличия неизвестных или генетически недостаточно охарактеризованных непатогенных видов, близких к индицируемому возбудителю (см. выше), специфичность и, следовательно, достоверность индикации возбудителя низка, если выводы сделаны на основании анализа нуклеотидных

последовательностей какого-то одного гена. Она существенно возрастает с применением МЛСА.

Бартонеллы, например, — обширная группа близких бактерий-симбионтов млекопитающих. Лишь меньшая часть из них патогенны для человека, но их распространение еще плохо изучено, и новые достоверные данные по этому поводу представляют большой интерес. На основании результатов секвенирования ПЦР продуктов участка одного гена (*groEL*) были сделаны выводы о высокой зараженности иксодовых клещей патогенными бартонеллами в Западной Сибири (Rar et al., 2005; Morozova et al., 2006; Морозова и др., 2011) и мелких млекопитающих на Дальнем Востоке (Mediannikov et al., 2005). По аналогичным данным решено, что в Челябинской области у клещей «выявлено наличие *Bartonella quintana* и *Bartonella henselae*» (Гришечкин и др., 2010), а в разных зонах Западной Сибири бартонеллы «выявлены» на основании результатов амплификации участка спейсера 16S–23S (Старостина и др., 2009). Однако даже при наличии изолятов о видовой принадлежности бартонелл, как и риккетсий (Fournier et al., 2003), можно достоверно судить лишь по нуклеотидным последовательностям на определенных участках минимум четырех генов (Марков и др., 2006; Кириллов и др., 2007).

Не меньшее недоумение вызывает сенсационное обнаружение в аридной зоне (на территории Астраханской обл.) в суспензиях легочной ткани грызунов, исследованных методом ПЦР, РНК хантавирусов Добрава и Пуумала (Журавлев и др., 2008), ареалы которых не связаны с открытыми ландшафтами. Авторы сами констатировали, что полученные ими последовательности отличались от соответствующих сиквенсов классических штаммов вируса Добрава на 15–25 %, а от некоторых изолятов вируса Пуумала — на 20 %. Это дает основание полагать, что обнаружена РНК неизвестных ранее и, вероятно, непатогенных для человека хантавирусов.

Большой осторожности требуют выводы, сделанные по результатам секвенирования сравнительно небольших участков гена слабо изученных таксонов микроорганизмов, например, бабезий. Это многочисленная группа простейших. До недавнего времени считали, что она насчитывает более сотни видов, причем большая их часть непатогенна для человека. Нуклеотидные последовательности фрагментов генома далеко не всех видов депонированы в GenBank. Кроме того, совершенно ясно, что в ближайшее время будут описаны пока еще неизвестные виды. Последовательность нуклеотидов определенного фрагмента их генома может оказаться более гомологичной тем, которые в настоящее время имеются в GenBank, чем у получаемых сегодня ПЦР продуктов. Поэтому обнаружение новых генетических вариантов бабезий при отсутствии их изолятов (Рар и др., 2011a) не может не вызывать скептического отношения.

Обнаружение ДНК или РНК того или иного возбудителя у членистоногих или позвоночных все чаще трактуют как достаточный аргумент для признания их переносчиками или резервуарными хозяевами, что совершенно неправомерно. Один из таких типичных примеров — обнаружение кДНК и антигена вируса За-

падного Нила (ВЗН) у иксодовых клещей (Москвитина и др., 2008). Как признают авторы, полученные ими факты «...не дают строгого ответа на вопрос о роли клещей в формировании природного очага этой инфекции» (С. 220), но, тем не менее, считают, что «...активная передача ВЗН клещами осуществляется в течение всего сезона их активности» (С. 219).

В зимне-весенний период у землероек-бурозубок обнаружены РНК и оболочечный белок Е вируса КЭ при отсутствии у них «инфекционного вируса» и даже гемагглютинирующего антигена, наличие которого (как и РНК) само по себе не служит «...подтверждением тому, что возбудитель способен длительно сохраняться в организме зверьков» (Бахвалова и др., 2003, С. 26). Несмотря на это, сделано необоснованное предположение: «...возбудитель персистирует в организме зверьков, и тем самым обыкновенные бурозубки участвуют в сохранении вируса КЭ в межэпизоотический период» (Бахвалова и др., 2001, С. 383). РНК вируса КЭ действительно может длительно сохраняться во внутренних органах мелких млекопитающих, но это дает лишь основание для использования результатов их исследования в качестве индикатора циркуляции вируса на определенной территории (Кнар et al., 2011).

Дело в том, что возбудители природноочаговых инфекций, особенно арбовирусы, регулярно передаются по трофическим цепям и следовательно могут быть обнаружены в организме самых различных облигатных и факультативных кровососов и их хозяев, причем не только современными весьма чувствительными молекулярно-биологическими методами (Коренберг, 2010). Еще К. Эндрюс (1969) обратил внимание на то, что некоторые арбовирусы, например, могут размножаться в пищеварительном тракте комнатных мух, саранчи, постельных клопов, жуков и бабочек. Патогенная для человека *Rickettsia felis* недавно обнаружена у членистоногого, не питающегося кровью — у так называемой книжной вши *Liposcellis bostrychophila* (Thepparit et al., 2011). В принципе нет серьезных препятствий для получения из кровяного русла прокормителя любыми кровососами любого возбудителя, но это вовсе не означает, что такие инфицированные членистоногие в дальнейшем будут эффективным звеном его циркуляции (Алексеев, 2008). Боррелий группы *B. burgdorferi sensu lato*, например, неоднократно детектировали различными методами, включая молекулярно-биологические, у клещей рода *Dermacentor* (Рудакова, 2011). Однако, эти членистоногие не способны поддерживать циркуляцию боррелий, которые гибнут под действием их гемолимфы (Johns et al., 2001). Поэтому (если говорить в самой общей форме) положительные результаты ПЦР или других современных методов геноиндикации возбудителей не дают права игнорировать уже давно сформулированные критерии для оценки способности членистоногих и позвоночных конкретного вида осуществлять регулярную передачу возбудителя (Павловский, 1947, 1964). Переносчики и резервуарные хозяева возбудителя могут быть основными (или главными), дополнительными (или второстепенными) и случайными. Эти элементарные понятия эпизоотологии, на которые недавно еще раз обратил внимание Ю. С. Балашов

(Балашов, 2009), сейчас почти преданы забвению. Между тем результаты геноиндикации возбудителя не дают возможности отнести животное к той или иной из этих категорий и, следовательно, не достаточны для объективной оценки его истинной роли в эпизоотологии природноочаговой инфекции.

Кроме того, нужно учитывать, что в принципе метод ПЦР выявляет не только жизнеспособные бактериальные клетки или вирусные частицы, но и фрагменты генома достаточно давно погибших микроорганизмов. Положительные результаты ПЦР сами по себе не обязательно свидетельствуют о наличии у тестируемого макроорганизма в момент взятия пробы живого возбудителя, способного поддержать его дальнейшую вертикальную или (и) горизонтальную передачу. Поэтому ПЦР-положительных животных по меньшей мере далеко не всегда корректно считать (отождествлять с) зараженными. На определенной поздней фазе хантавирусной инфекции, например, у лесных полевок, возможна детекция специфической РНК, однако антиген не обнаруживается (Деконенко, Ткаченко, 2004). Наличие РНК вируса КЭ не доказывает, как это утверждают Bakhvalova et al. (2009), возможность его длительной персистенции у мелких млекопитающих и вертикальной передачи между их генерациями. Следует подчеркнуть, что речь идет не об отрицании полезности и необходимости применения современных молекулярно-биологических методов при изучении эпизоотического процесса, особенно в сочетании с «классическими» вирусологическими, микробиологическими, паразитологическими, популяционно-экологическими и другими методами. Вопрос — в корректности трактовки полученных результатов.

Молекулярно-биологические методы и представления о внутривидовой гетерогенности компонентов паразитарной системы. Всем микроорганизмам в большей или меньшей мере свойственна клональная изменчивость (Barbour, 1985; Ряпис, Беляков, 1997), которая имеет адаптивный характер, проявляющаяся в ходе этого процесса и оказывающая сильное влияние на его течение. С этих позиций виды возбудителей можно рассматривать как совокупность многих клональных линий, каждой из которых свойственна относительная изоляция генофонда, характерная для популяции микроорганизма (Кравцов, Ряпис, 1991). Это позволяет ей быстро адаптироваться к совершенно разным условиям внутренней среды естественных резервуарных хозяев и переносчиков, а также к прямому и косвенному воздействию факторов внешней среды. Популяция возбудителя в природном очаге может иметь одновременно несколько аллельных вариантов определенного гена, а в сумме она включает множество таких вариантов (Korenberg et al., 2006; Фадеева и др., 2006; Коренберг и др., 2011).

Таким образом, динамический полиморфизм генетической структуры популяции возбудителя — это нормальное явление, обеспечивающее природным очагам большую устойчивость, в частности и при усиливающемся воздействии антропогенных факторов. Его изучение — одна из наиболее важных задач. Однако анализ небольшого числа изолятов или ПЦР-продуктов, выделенных из различного тестируемого материала, даже если он проведен самыми современными

молекулярными методами, не отражает генетическую структуру популяции возбудителя (или переносчика, или резервуарного хозяина) и не дает возможности делать выводы о любых формах ее изменчивости.

Публикации пестрят так называемыми «филогенетическими деревьями». Они характеризуют степень сходства нуклеотидных последовательностей определенного участка генома немногих изолятов того или иного микроорганизма, которые зачастую получены в разные годы и в разных регионах (Demina et al., 2010). Такие данные (например Фоменко и др., 2009) не отражают генетическую структуру популяции возбудителя. Кстати говоря, подобные дендрограммы не корректно называть «филогенетическими деревьями», поскольку они не имеют отношения к общебиологическому понятию «филогенез» (Биол. энциклопед. словарь, 1986) и к филогении микроорганизмов (Ludwig, Klenk, 2001; Martin, Embley, 2004; Воронина, Гинцбург, 2009).

Молекулярно-биологические методы и лабораторная диагностика природноочаговых заболеваний. При укусе насекомые или клещи способны ввести человеку множество различных патогенных и непатогенных для него микроорганизмов. Кроме того, реципиент может, как известно, получить субклиническую дозу возбудителя, недостаточную для развития инфекционного процесса. Анализ ампликонов — далеко не идеальный метод идентификации заболевания по ПЦР-продуктам, которые получены из биоматериала при отсутствии самого микроорганизма. Поэтому нужно с большой осторожностью подходить к результатам геноиндикации возбудителя при оценке его роли в этиологии заболеваний, возникших после укуса членистоногих, особенно в тех случаях, когда речь идет о не диагностировавшихся ранее инфекциях, а другие четкие доказательства (сериологические, микробиологические, клинические и др.) отсутствуют. Недопустимо, например, только на основании нуклеотидных последовательностей в продуктах ПЦР небольшого участка одного гена (см. выше), полученных при анализе проб крови пациентов, утверждать, что впервые в Новосибирской области обнаружена новая бартоanelлезная инфекция (Morozova et al., 2006; Морозова и др., 2011 и др.).

Столь же сомнительно на основании последовательностей нуклеотидов трех локусов, лишь одна из которых (гена *gfpQ*) по современным данным характерна для *B. miyamotoi*, считать ДНК, обнаруженную в крови пациентов, принадлежащей именно этому виду боррелий, тем более, что при амплификации положительный контроль вообще не использовали (Фоменко и др., 2010; 2010a). Приведенный в данной публикации анализ сиквенсов, как и результаты изучения ПЦР-продуктов, выявленных у клещей *I. persulcatus* (Фоменко и др., 2010, 2011), подтверждают представления о «промежуточной» между АКБ и ИКБ группе боррелий. Среди них могут оказаться непатогенные для человека виды, близкие по структуре генома к *B. miyamotoi* (см. выше). Не отвечает многим элементарным инфектологическим требованиям утверждение об «открытии нового варианта иксодовых клещевых боррелиозов» (Карань и др.,

2010, С. 76), вызываемого *B. miyamotoi* (Platonov et al., 2011). Оно сделано при отсутствии изолята от пациентов (и от переносчиков), на основании обнаружения рРНК именно этого, как утверждают авторы, микроорганизма у больных с безэритемной формой ИКБ, причем при сравнительно незначительной встречаемости «*B. miyamotoi*» ПЦР-продуктов у взрослых таежных клещей (Мухачева, Ковалев, 2011; Platonov et al., 2011; Травина и др., 2011) выявляется совершенно несоответствующая ей значительная их частота у пациентов («в 53 % проб от больных ИКБ в безэритемной форме») (!) Для лабораторного подтверждения этого диагноза использована разработанная самими авторами тест-система детекции 16S РНК *B. miyamotoi* методом ПЦР в реальном времени, причем общепринятые доказательства ее специфичности вообще не приведены. На этом фоне пока как научно не обоснованная реклама выглядит заявление: «Включение в комплекс методик тест-системы для выявления *B. miyamotoi* представляет уникальную на настоящий день возможность для диагностики этой новой, ранее неизвестной инфекции» (Карань и др., 2010, С. 76). Есть ли вероятность, что авторы правы в отношении патогенности *B. miyamotoi* для человека? Разумеется, да. Но речь идет, во-первых, о том, что такой важный вывод должен быть последовательно и всесторонне обоснован и, во-вторых, о правомерности отнесения новой инфекции (если это будет доказано) к группе АКБ.

Обнаружение ДНК вновь описанного микроорганизма «Montezuma» в клещах и в образцах крови от больных людей (Медяников и др., 2004) не доказывает, что он ассоциирован с новым трансмиссивным заболеванием человека (Коренберг, 2005).

Требования к доказательствам этиологической роли того или иного микроорганизма в инфекционном заболевании известны как постулаты Коха. Они и в наши дни полностью не утратили своего значения, но были принципиально модернизированы. Применительно к оценке результатов, полученных молекулярно-биологическими методами индикации и изучения агентов, предложен комплекс требований для их признания возбудителями заболевания (Fredricks, Relman, 1996; Лашкевич и др., 2002). Приведенные выше примеры крайне упрощенной трактовки результатов идентификации «новых возбудителей» не отвечают рекомендациям и требованиям к современным доказательствам этиологии инфекционного заболевания, но, к сожалению, могут иметь прямые медицинские последствия.

Общие закономерности патогенеза и иммуногенеза, характерные для определенной нозологической формы, и индивидуальные особенности развития инфекционного процесса (например, серонегативный) приводят к тому, что у метода ПЦР и серологических методов существуют подчас не совпадающие временные промежутки, оптимальные для их использования в лабораторной диагностике. Поэтому генодиагностику и серодиагностику (например, ИФА) следует рассматривать не как альтернативные, а как взаимодополняющие друг

друга методы лабораторной диагностики природноочаговых болезней (Oksi et al., 1995; Lee et al., 2010б; Тетерин и др., 2012).

7.5. Перспективные методы лабораторной диагностики. Мультиплексный анализ

Перспективы в развитии методов лабораторной диагностики заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, связаны с совершенствованием традиционных подходов и внедрением принципиально новых технологий. Для повышения эффективности существующих лабораторных методов важное значение имеют: автоматизация методик культивирования, использование мультилокусной ПЦР для выявления нескольких ДНК-мишеней (ИОМ, 2011), включение в состав серологических тестов новых рекомбинантных и пептидных антигенов (разделы 7.3.2, 7.3.3, 7.3.4), совершенствование традиционных методик твердофазного иммуноанализа за счет использования люминесцентных методов регистрации сигнала (Помелова и др., 2006а; Vurbelo et al., 2010) и проведения иммунореакции в суспензии (www.luminex.com). Не менее актуальна разработка алгоритмов лабораторной диагностики с использованием комплекса диагностических методов и набора биомаркеров, обеспечивающих диагностическую точность при контроле стадии заболевания или длительности инфицирования, а также при прогнозе течения болезни и оценке эффективности терапии (ИОМ, 2011).

Современные тенденции в развитии лабораторных методов связаны с разработкой технологий мультианалитного (мультиплексного) анализа. Мультиплексные системы обеспечивают возможность одновременного обнаружения нескольких маркеров в одной пробе без ее разделения и лежат в основе комплексного подхода к решению широкого спектра задач в области молекулярной диагностики инфекций, связанных с необходимостью определения спектра антител, антигенов или ДНК при проведении скринингово-сероэпидемиологических обследований эндемичных территорий, серологической диагностики заболеваний, специфической индикации и идентификации патогенов. При лабораторной диагностике заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, такой подход особенно перспективен в связи с возможным микст-инфицированием и возникновением смешанных инфекций после укуса клеща (см. разделы 7.5.3, 7.5.4).

Наряду с появлением различных вариантов мультиплексной ПЦР в последние годы активно развиваются новые подходы к мультиплексному анализу на основе реакций биоспецифического (иммунохимического) связывания. Среди них можно выделить три наиболее перспективные технологические платформы: биосенсоры, чип-лаборатории, системы мультиплексного анализа с использованием суспензий микрочастиц или планарных микроэрреев. Их общей и наиболее существенной характеристикой является миниатюризация и возможность совмещения нескольких аналитических систем в формате одного теста. Однако диаг-

ностический потенциал этих систем и, соответственно, область их применения существенно различны.

Биосенсоры представляют собой датчики, в которых имеется чувствительный элемент, выполненный, в зависимости от назначения, из целых клеток животного, растительного или микробного происхождения, их фрагментов, белков (антител, антигенов, ферментов и т.п.). Биосенсоры трансформируют сигнал биоспецифического взаимодействия в один из физических сигналов (это может быть сигнал люминесценции, магнитного резонанса, электрохимический, гравиметрический и т.п.) с его последующим преобразованием в электрический (потенциометрический) сигнал. Биосенсорные технологии, благодаря высокому быстродействию (отклик датчика на воздействие можно получить через 1–2 минуты), нашли применение для решения задач по быстрому выявлению аналитов в режиме реального времени, например в процессе изучения биохимической активности клеток при проведении кинетических измерений. Выявление в пробе одновременно нескольких аналитов (мультиплексный анализ) в биосенсорах обеспечивается за счет объединения нескольких сенсоров в один общий датчик, контактирующий с пробой. Известны работы по использованию биосенсоров для детекции биопатогенов — возбудителей инфекционных заболеваний (Cooper et al., 1999; Anderson et al., 2000), в том числе для прямого выявления специфических антигенов *B. burgdorferi sensu stricto* в крови пациентов на ранних сроках болезни Лайма (Lerner et al., 2013). Биосенсорное направление, однако, не получило сколь-нибудь значимого применения в лабораторной клинической диагностике из-за высокой стоимости тестирования, низкой производительности, плохой воспроизводимости результатов и ограниченного срока службы биосенсорных датчиков.

Чип-лаборатории (Lab-on-a-chip) — это микросистемы из резервуаров с реагентами, микронасосов, датчиков для регистрации сигналов из микрообъемов, в которых осуществляется полный замкнутый многостадийный цикл анализа без вмешательства оператора. Чип-лаборатории рассчитаны на последовательный анализ большого количества микропроб и потенциально способны осуществлять мультиплексный анализ (Jang et al., 2002; Methods., 2012). Число публикаций по этой проблеме в последние годы заметно возросло, что свидетельствует о проведении активных исследований. Вместе с тем, несмотря на большие объемы финансирования, направляемые на создание чип-лабораторий, и очевидную внешнюю привлекательность этого подхода, обусловленную возможностью проведения операций преаналитического (пробоподготовка) и аналитического этапа в автоматическом режиме с использованием микроколичеств пробы, ощутимого прорыва в этом направлении не произошло. Исследования ведущих биотехнологических компаний, по существу, не вышли за стадию создания экспериментальных образцов или ограниченных по объему партий чип-лабораторий. В настоящее время стоимость тестирования на чип-лабораториях в десятки раз выше стоимости традиционных методов иммунохимического (иммуноферментного, иммунолюминесцентного) анализа.

Пожалуй, единственным, но важным исключением являются иммунохроматографические тесты (тест-полоски или картриджи из нескольких элементов), которые в определенном смысле можно рассматривать как прототип чип-лабораторий. Они включают все необходимые реагенты для преобразования актов биоспецифического взаимодействия в визуальный, магнитный, электрохимический или люминесцентный сигнал и удобны для получения быстрого предварительного ответа (Ярков и др., 2009). Хроматографическое распределение по мембране осуществляется за счет капиллярных сил с одновременным концентрированием искомым анализом в узких зонах биоспецифического связывания. Иммунохроматографические тесты позволяют осуществлять прямой анализ проб биологического материала, в том числе при выявлении антигенов вируса КЭ и возбудителей ИКБ в суспензии из клещей (Экспресс-тест., 2013; табл. 7.13).

Следует подчеркнуть, что ни биосенсоры, ни чип-лаборатории изначально не были ориентированы на решение задач тестирования биопроб на наличие множества маркеров различных заболеваний. Их диагностический потенциал существенно ниже, чем у биочипов (микроэстреев), развитие которых в последние годы происходит высокими темпами, о чем свидетельствует многократное возрастание числа публикаций.

В чем преимущество мультиплексных систем по сравнению с традиционными методами биологического микроанализа, и почему так активно ведется их разработка? Прежде всего стало очевидным, что для уточнения диагноза большинства заболеваний целесообразно использовать несколько маркеров, сочетание которых дает более полную и объективную картину болезни. Более того, многие заболевания имеют схожую клиническую картину, что обуславливает необходимость проведения анализа в отношении целого спектра маркеров нескольких заболеваний. Следует также отметить, что мультиплексные миниатюрные аналитические системы, совмещенные в единый тест, обеспечивают кардинальное снижение трудоемкости и материальных затрат на тестирование.

7.5.1. Уровень разработок в области мультиплексного анализа

Технология мультиплексного анализа (технология биочипов или микроэстреев — *microarray technology*), эволюционировала из Саузерн-блота, в котором фрагменты ДНК, связанные с поверхностью матрикса, выявляются с помощью комплементарных ДНК-зондов. Миниатюризированные ДНК-микроэстрей (ДНК-чипы) готовятся на основе олигонуклеотидов, кДНК или небольших фрагментов продуктов ПЦР, позволяющих контролировать накопление мРНК в биоматериале. Такие зонды синтезируют предварительно, а затем печатают с помощью роботизированных систем (наноплоттеров) на поверхности твердого матрикса (*spotted microarrays*), либо синтезируют короткие олигонуклеотидные последовательности из 25–60 оснований непосредственно на поверхности подложки (*oligonucleotide microarrays*). ДНК-чипы были впервые применены в конце 1990 годов для определения профиля экспрессии генов (Schena et al., 1995) и для

определения полного эукариотического генома (Lashkari et al., 1997). В настоящее время ДНК-чипы широко используют для выявления генетических нарушений, связанных с одиночными нуклеотидными заменами (SNP). Благодаря развитию технологий ДНК-чипов происходит формирование новых лечебно-диагностических технологий персонализированной медицины, которые позволяют на генетическом уровне прогнозировать реакцию организма на введение лекарственных веществ (фармакогенетика) и осуществлять индивидуальный для каждого пациента подбор антибиотиков с учетом профиля антибиотикоустойчивости инфекционных агентов (Protein Arrays., 2003; Lopez et al., 2007).

ДНК-чипы, однако, не способны мониторировать уровень синтезированных белков, играющих важную роль в функциональной активности клетки, так как во многих случаях отсутствует корреляция между уровнем мРНК и концентрацией соответствующих ей белков. Это, наряду с вышесказанным, послужило важным побудительным мотивом к созданию белковых (иммуно-) чипов.

Одна из первых основополагающих работ по созданию мультиплексных микроаналитических систем (биочипов, микроэрреев) для лабораторной клинической диагностики — это работа R. P. Ekins (1989). В ней проанализированы тенденции развития различных методов, основанных на биоспецифическом связывании аналитов с лигандами, и на теоретическом уровне обоснованы высокие аналитические характеристики мультиплексных систем. В частности, была обоснована и экспериментально подтверждена возможность количественного измерения аналитов в микрозонах (эрреях), формируемых в виде массивов микропятен на твердой подложке, и достижение чувствительности тестов на уровне 10^{-15} - 10^{-18} М (10^4 - 10^5 молекул аналитов в анализируемой пробе). Впоследствии эти выводы были подтверждены работами многих исследователей вне зависимости от того, на каком физическом принципе осуществлялось детектирование сигнала от микроэрреев. Принципиальное значение имеет факт концентрирования выявляемого в пробе аналита в микрозоне с соответствующим лигандом (благодаря высокой константе связывания — порядка 10^{-10} - 10^{-15} М), при этом размеры микрозоны, как правило, не должны превышать в диаметре 0,1–0,2 мм. В этом случае уровень сигнала от микрозоны возрастает прямо пропорционально увеличению концентрации аналита в пробе.

Системы мультиплексного анализа могут быть условно разделены на 2 основных вида: планарные и суспензионные на основе микрочастиц (Ellington et al., 2010). В двухмерных планарных системах микропятна связывающих реагентов (олигонуклеотидные зонды, рекомбинантные или пептидные антигены, антитела) напечатаны на плоской поверхности в определенном порядке и пространственно разнесены. Идентификация аналита базируется на определении его «X», «Y» координат с помощью программных средств обработки сигналов отдельных микропятен. В суспензионном анализе аналиты связываются на поверхности частицы с лигандами и выявляются по наличию сигнала флуоресценции, обусловленного комплексом биореагентов с флуоресцентной меткой. Теоретические выводы, сформулированные R. P. Ekins (1989, 1998) для планарных систем, во многом применимы и для

суспензионных мультиплексных систем, формируемых на основе полимерных микрочастиц, покрытых специфическими реагентами для связывания аналитов.

В настоящее время в клинической практике наибольшее применение нашла мультиплексная технология Люминекс® на основе суспензионного анализа (www.luminex.com). Для одновременного выявления нескольких аналитов используют смесь из частиц (диаметром 5–6 микрон), отличающихся спектрами собственной флуоресценции. При этом каждый «сорт» частиц в смеси отличается от другого «сорта» содержанием двух видов спектрально различимых флуорохромов. Спектр эмиссии частиц одного «сорта» отличается от спектра эмиссии другого по соотношению сигналов в двух спектральных диапазонах, соответствующих максимумам их эмиссии. Каждый «сорт» частиц содержит на поверхности только один вид лиганда и связывает вполне определенный аналит. Соотношение сигналов от каждого из двух флуорохромов в микрочастице, строго заданное для каждого «сорта» микрочастиц, служит своеобразным адресом для каждого аналита.

Для выявления на частице комплексов аналит-лиганд специфические компоненты (например антитела) маркируют биотином. На финальной стадии анализа добавляют стрептавидин, конъюгированный с фикоэритрином, флуоресценция которого сильно смещена в красную область по сравнению с флуоресценцией веществ, используемых для формирования адреса частицы. Это позволяет независимо регистрировать «сорт» частицы и количество аналитов, с ней связанных. Сигналы флуоресценции регистрируют от каждой микрочастицы при ее прохождении через световой поток в капилляре.

Технология Люминекс® теоретически рассчитана на одновременное детектирование до 100 аналитов, а при тестировании ДНК — до 500 олигонуклеотидов. Преимущества суспензионной системы обусловлены хорошей воспроизводимостью результатов, поскольку заключение о наличии искомого аналита выдается на основе 50–100 независимых измерений каждого «сорта» микрочастиц. Вместе с тем суспензионный анализ может быть более уязвим к перекрестной реактивности между белками в процессе циркуляции микрочастиц в жидкости, что ограничивает способность к мультиплексности (Ling et al., 2007). Другие недостатки суспензионного теста связаны с необходимостью использования стадии пробоподготовки и удаления несвязавшихся с частицами материалов из пробы фильтрацией в лунках микропланшетов, возможностью подтекания и засорения фильтров, а также неспецифической адсорбции аналитов к поверхности фильтров в процессе промывания микрочастиц в планшетах с мембранным дном (Hartmann et al., 2009). Для преодоления этих ограничений рекомендовано использование магнитных шариков (Nichkova et al., 2007). Динамический диапазон определяемых концентраций (примерно 3 log) ограничен достаточно высоким уровнем фоновой люминесценции флуорохромов микрочастиц и примесей пробы и невысокой сорбционной емкостью каждой частицы.

Известны и другие суспензионные мультиплексные технологии, которые частично снимают эти ограничения. Например, в технологии компании ILLUMINA

для формирования так называемого адреса используют микроцилиндры размером до 150 микрон с нанесенными на них штрих-кодами (www.illumina.com). ЗАО «ИММУНОСКРИН» (Москва) предложен вариант формирования адреса на основе длительно люминесцирующих соединений. В этом варианте считывание сигнала осуществляется на твердой нелюминесцирующей мембранной подложке после стадии промывки, а формирование адреса частиц осуществляется с учетом не только спектральных, но и временных характеристик затухания фосфоресценции (Осин, 2010). Применение штрих-кодировки и учет дополнительных параметров флуоресценции, таких как кинетика затухания флуорохромов, теоретически позволяют существенно расширить мультиплексность и динамический диапазон выявляемых концентраций суспензионных методов и более надежно формировать «адрес» микрочастиц. Эти разработки, однако, появились существенно позже, чем технология Люминекс®, и не достигли сколь-нибудь заметного уровня коммерциализации.

Сегодня наиболее продвинуты в рыночном отношении планарные биочипы для выявления нуклеиновой кислоты (олигонуклеотидов), то есть ДНК-чипы. Микроэрреи формируют на различных типах подложек из полимерных материалов или стекла. Предварительно (до печати) и после печати микроэрреев поверхность подложки обрабатывают специальными растворами, стабилизирующими биоматериал и снижающими неспецифическую сорбцию (www.biodot.com; www.arrayit.com).

В зависимости от назначения используют биочипы с различной плотностью микроэрреев. Так, для генетического анализа последовательностей нуклеотидов и выявления одиночных нуклеотидных замен используют высокоплотные биочипы с количеством элементов (олигонуклеотидных ДНК-зондов) от сотен до 10000/мм² (www.abbott.com; www.affimetrics.com; www.arrayit.com). Для выявления и анализа нуклеиновой кислоты возбудителей инфекционных заболеваний, как правило, используют биочипы с более низкой плотностью нуклеотидных зондов — до 100–200/мм² с общим числом микроэрреев, не превышающим 1000 (Protein Arrays., 2003; Lopez et al., 2007). Плотность микроэрреев для выявления низкомолекулярных аналитов, пептидов, белков, клеток или их отдельных элементов, как правило, еще ниже. Биочипы, в которых в качестве лигандов используются антитела для выявления аналитов или антигены для выявления антител, получили название иммуночипов. Большинство задач в области лабораторной диагностики, в том числе природноочаговых инфекций, с использованием иммуночипов может быть ограничено небольшим (до нескольких десятков) числом микроэрреев.

Для регистрации сигнала с поверхности биочипа апробированы различные системы электрического, электрохимического, магнитного и оптического детектирования. Сегодня практически весь рынок биочипов (более 90 %) сформирован на основе оптических систем детекции. Последние можно разбить на две группы: микроэрреи с фотометрической системой детекции (измерение оптической плотности пятен) и микроэрреи с люминесцентной системой детекции (измерение сигнала флуоресценции, фосфоресценции или усиленной хемилюминесценции).

Фотометрическая система детекции используется в сочетании с иммуноферментным анализом и проявляющимися реагентами на основе нерастворимых субстратов (например, солей тетраметилбензидина). Эта система не требует дорогостоящего оборудования для регистрации сигнала (может быть использован даже обычный копировальный сканер) (www.biodot.com). Фотометрическая система детекции проста, и ее использование целесообразно, когда не требуется высокая чувствительность и точность тестирования.

Люминесцентные системы детекции сложнее. В настоящее время они доминируют на рынке биочипов. Это обусловлено тем, что биочипы с люминесцентной детекцией способны обеспечить «рекордную» чувствительность (до тысячи молекул аналита в анализируемой пробе), широкий диапазон выявляемых концентраций аналитов (не менее 4–5 порядков) и приемлемую точность с коэффициентом вариации на уровне до 10–12 %.

В зависимости от функционального назначения иммуночипы условно можно разделить на три группы: аналитические (capture arrays), функциональные (target protein arrays), с перевернутой фазой (reverse phase protein microarray) (Joos, Bachmann, 2009). Функциональные иммуночипы и чипы с перевернутой фазой применяют, прежде всего, в фундаментальных исследованиях, связанных с изучением биохимической активности полного протеома или посттрансляционных модификаций, возникших вследствие болезни. Аналитические иммуночипы нашли наиболее широкое применение для диагностики заболеваний, поиска новых биомаркеров, идентификации лекарственных мишеней. В таких чипах на подложке сорбированы антитела, аптамеры или аффибоди, способные связывать специфические белки из анализируемой белковой смеси. Наиболее широко используют аналитические иммуночипы на основе антител, которые впервые были описаны в начале 2000-х годов (MacBeath, Schreiber, 2000; Naab et al., 2001).

Белковые иммуночипы, как правило, основаны на использовании сэндвич-формата иммуноанализа. Такой формат обеспечивает высокую чувствительность и специфичность. Критическим фактором, ограничивающим мультиплексность, является специфичность белков, сорбированных на подложке (MacBeath, 2002), и их связывающая аффинность (Templin et al., 2003; Seurynck-Servoss et al., 2007). В отличие от нуклеиновых кислот, антитела и белки в целом являются существенно более сложными и гетерогенными химическими и структурными соединениями, часто непредсказуемыми с точки зрения профиля их реактивности. Проблемы кросс-реактивности и неспецифического связывания могут существенно ограничить число возможных комбинаций белков в формате чипа (Kingsmore, 2006).

Вследствие названных причин к настоящему времени в основном разработаны иммуночипы (как планарные, так и суспензионные) невысокой мультиплексности и, соответственно, низкой плотности. Перспективными для создания белковых чипов высокой плотности могут оказаться, например, однодоменные фрагменты антител (single domain antibody fragments, sdAbs), продуценты которых — верблюды и ламы (Even-Desrumeaux et al., 2010). Уникальность этих

антител обусловлена отсутствием легких цепей (при сохранении способности к связыванию антигенов), малым размером молекул (15 кДа), стабильностью, растворимостью, высоким выходом.

Мультиплексные тесты имеют значительные преимущества с точки зрения скорости анализа, стоимости и расхода реагентов, а также объема снимаемой с чипа информации. Однако, несмотря на значительный объем исследований и материальных затрат в области создания белковых чипов, до стадии коммерциализации дошли лишь немногие разработки.

Создание высокоплотных иммуночипов связано с объективными сложностями. Ключевые из них:

- выбор подходящей поверхности и методов пришивки, обеспечивающих поддержание вторичной и четвертичной структуры белков, а значит и их биологической активности и способности к взаимодействию с другими молекулами;
- масштабирование производства стабильных эрреев, сохраняющих активность при хранении;
- идентификация и выделение антител или других связывающих молекул к каждому белку генома человека;
- количественный учет уровня связанных белков при оценке чувствительности и предотвращение фонового «шума»;
- экстракция детектируемого белка из чипа для его последующего анализа;
- снижение неспецифического связывания улавливающими реагентами;
- потенциал чипа, который должен быть достаточным для максимально возможной презентации генома: белки, накапливающиеся в больших количествах, маскируют детекцию белков, накапливающихся в меньших количествах (сигнальные молекулы и рецепторы), которые обычно представляют наибольший терапевтический интерес.

Сложность создания воспроизводимых эрреев иллюстрирует тот факт, что, несмотря на появление сотен вариантов научных разработок, только ограниченное число белковых чипов было одобрено Food and Drug Administration (FDA) США для клинического использования. Это преимущественно иммуночипы на основе принципа латерального потока, предназначенные для использования у постели больного (например, портативный прибор Triage Cardio Profiler для 4-плексного определения тропонина, креатинкиназы, миоглобина и мозгового пептида при оценке боли за грудиной). В настоящее время FDA в основном ориентируется на суспензионные иммуночипы, основное назначение которых — тестирование антител в сыворотке пациента при диагностике аллергических, аутоиммунных или инфекционных заболеваний в клинической лаборатории (Hartman et al., 2009). В нашей стране компанией ООО «Биочип-ИМБ» (Москва) зарегистрирован иммуночип для выявления 6 онкомаркеров (Саватеева и др., 2006), в стадии разработки и регистрации находятся иммуночипы компании ООО «Интерлабсервис» (Москва) для серодиагностики инфекций группы ТОРЧ-комплекса (www.interlabservice.ru). Этот список в ближайшие 3–5 лет

будет многократно расширен за счет создания диагностических иммуночипов низкой плотности, предназначенных, в основном, для качественных и полуколичественных измерений. Перспективы создания и применения мультиплексных тестов для лабораторной диагностики природноочаговых инфекций, в том числе заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, представлены в разделе 7.5.3.

7.5.2. Аппаратурно-методическое оснащение мультиплексного анализа

В настоящее время на рынке тестов для научных исследований в основном представлены два формата планарных люминесцентных микроэрреев: на слайдах (микроскопных стеклах) (MacBeath, Schreiber, 2000; Saviranta et al., 2004; Haab et al., 2005) и в виде 96 луночных микропланшетов и микропробирок (Mendoza et al., 1999; Moody et al., 2001; Wiese et al., 2001).

Биочипы на слайдах, как правило, рассчитаны на качественный анализ одной или нескольких (до 16) проб и представлены преимущественно ДНК-чипами и, существенно реже, иммуночипами. Промышленные технологии производства иммуночипов в формате микроскопных стекол более сложны и менее производительны, чем в формате 96 луночных микропланшетов. Более того, лабораторные исследования с использованием микроскопных стекол существенно менее производительны и не могут обеспечить проведение массовых исследований с производительностью до 500–1000 анализов в день.

По мере формирования рынка иммуночипов все большее внимание привлекает микропланшетный формат, которому мы уделим особое внимание. По сравнению со слайдами этот формат экономичен, обеспечивает гораздо большую производительность и может быть использован для массовых скрининговых обследований населения.

Ряд ведущих мировых компаний выпускает специализированные принтеры (наноплоттеры) для контактной и бесконтактной печати эрреев в лунки микропланшетов (Arrayjet AJ120, Aushon Biosystems 2470, Bio-Rad BioOdyssey Calligrapher, Genetix Qarray2, Genetix QArray mini, Lab Next Thomas™, PerkinElmer Piezoarray, Scienion sciFlexarrayer, Telechem Nanoprint™, Biodot AirJet). Контактные принтеры проще в эксплуатации и обеспечивают более высокую производительность, однако вариабельность дозирования у них выше и, соответственно, биочипы имеют более высокий коэффициент вариации люминесцентных сигналов.

Микропланшетный формат предполагает точное дозирование объема пробы в лунки микропланшета и обеспечивает существенно более высокую точность при количественных и полуколичественных измерениях концентраций аналитов. Следует отметить, что внедрение микропланшетных биочипов в практику клинико-диагностических лабораторий существенно проще, так как лаборатории, как правило, уже имеют набор вспомогательного оборудования (вошеры, диспенсеры, шейкеры), а персонал — опыт работы с микропланшетами.

Ряд компаний, изначально создавших биочипы на слайдах, в настоящее время пытаются адаптировать свои технологии к микропланшетному формату. Для этого используют специальные насадки, имитирующие лунки микропланшета, сборки из нескольких микроскопных стекол и т.п. Перед финальной стадией регистрации сигнала с микроэррея такие микропланшеты разбирают и анализируют в биочип-сканерах, предназначенных для работы с микроскопными стеклами (www.arrayit.com).

В настоящий момент можно выделить несколько базовых технологических платформ микропланшетных эрреев, отличающихся типом люминесцентных метчиков и, как следствие, видом технической реализации и значениями технико-экономических параметров (табл. 7.12).

Таблица 7.12. Сравнительная характеристика различных технологических платформ для мультиплексного иммуноанализа в формате 96-луночных микропланшетов

Название технологии / компания-разработчик	Принцип регистрации сигнала / вид метчика	Материал твердой фазы, тип микроэррея	Требования к обеспечению условий проведения анализа и квалификации оператора	Аналитические характеристики						Стоимость теста (относительно Фосфан™)	Ссылка
				Чувствительность, молекулы/ μ 2	Диапазон регистрации сигналов	Разрешение, мм	Количество эрреев в лунке (мультиплексность)	Воспроизводимость CV%	Время сканирования планшета, мин		
Фосфан™ / ЗАО ИММУНОСКРИН	Фосфоресценция / металлопорфирины Pt, Pd; комплексоны ионов Eu	Полистирол, стандартный планшет для ИФА	низкие	0,3	105	0,1	<16	<20	<20	1	www.immunoscreen.ru
Институт молекулярной биологии РАН	Флуоресценция	Стекло	высокие	1–2	103	0,02	<100	<20	—	3/1	

Таблица 7.12. Продолжение

Название технологии / компания-разработчик	Принцип регистрации сигнала / вид метчика	Материал твердой фазы, тип микроэрея	Требования к обеспечению условий проведения анализа и квалификации оператора	Аналитические характеристики						Стоимость теста (относительно Фофан™)	Ссылка
				Чувствительность, молекул/ μ 2	Диапазон регистрации сигналов	Разрешение, мм	Количество эрреев в лунке (мультиплектность)	Воспроизводимость CV%	Время сканирования планшета, мин		
Searchlight® / Termoscientific	Хемилюминесценция / ПХ, ЦФ	Полистирол, черный планшет для ИФА	средние	0,5–1	104	0,1–0,2	<16	<20	<30	5/1	Bastarache J.A. et al., 2011
Evidence® / Randox	То же	Нитроцеллюлоза, планарный	средние	0,3–1	104	0,1–0,2	9,16	<20	<10	5/1	www.randox.com
Bio-Plex (Luminex®) / Bio-Rad Laboratories	Флуоресценция/ фикоэритрин	Полистирольные микрокапсулы, суспензионный	средние	0,3-1	103–104	0,01*	<100	<15	<20	2/1	www.BioRad.com Ful et al., 2010
Flow Cytomix/ Bender MedSystems	То же	Полистирольные микрокапсулы, суспензионный	средние	0,3–1	10–104	0,01*	<100	<15	<20	2/1	Ful et al., 2010
Veracode / Illumina	Флуоресценция / Cy-3, Cy-5, Alexa 647	Стекло, микростолбики, суспензионный	высокие	1–2	103	0,1	<100	<20	<30	7/1	www.illumina.com

Таблица 7.12. Продолжение

Название технологии / компания-разработчик	Принцип регистрации сигнала / вид метки	Материал твердой фазы, тип микроаррея	Требования к обеспечению условий проведения анализа и квалификации оператора	Аналитические характеристики						Стоимость теста (относительно Фосфан™)	Ссылка
				Чувствительность, молекул/ μ 2	Диапазон регистрации сигналов	Разрешение, мм	Количество эрреев в лунке (мультиплектность)	Воспроизводимость CV%	Время сканирования планшета, мин		
Multi-Array/ Meso Scale Discovery	Электрохемилюминесценция/комплексы Ru (SULFO-TAG™)	Углерод, планарный	средние	0,1–0,2	105–106	0,2–0,3	10	<12	<20	10/1	www.mesoscale.com
A2/Beckman Coulter	Флуоресценция/ Cy-3, Cy-5, Alexa 647	Стекло, планарный	высокие	2	103	0,05	<100	<15	<10	4/1	www.beckman.com Ful et al., 2010
FAST Quant/ Whatman Schleicher & Schuel BioScience	То же	Нитроцеллюлоза, планарный	средние	0,5–1	104	0,05–0,1	<16	<20	<10	4/1	www.whatman.com Ful et al., 2010
Sensovation	То же	Стекло, планарный	средние	1–2	1,5 102	0,005	<100	<20	<10	3/1	www.sensovation.com
Tecan/ LS Reloaded	То же	Стекло, сборка из микроскопных слайдов, планарный	высокие	0,1	104	0,005	<100	<20	<30	5/1	www.tecan.com

Таблица 7.12. Окончание

Название технологии / компания-разработчик	Принцип регистрации сигнала / вид метчика	Материал твердой фазы, тип микроэррея	Требования к обеспечению условий проведения анализа и квалификации оператора	Аналитические характеристики					Стоимость теста (относительно Фофан™)	Ссылка	
				Чувствительность, молекул/ μ 2	Диапазон регистрации сигналов	Разрешение, мм	Количество эрреев в лунке (мультиплексность)	Воспроизводимость CV%			Время сканирования планшета, мин
Arrayt®	То же	Стекло, сборка из микроскопических слайдов	высокие	0,1	103	0,005	<100	<20	<30	4/1	www.arrayit.com

Для диагностических исследований с использованием иммуночипов ключевыми являются не только аналитические характеристики — чувствительность, динамический диапазон выявляемых концентраций аналитов, воспроизводимость (точность), но и уровень требований к условиям проведения анализа (влияние примесей, влажности, температуры и т.п.), а также стоимость реагентов и анализа в целом по отношению к замещаемым тестам. В таблице 7.12 продемонстрированы преимущества отечественных и зарубежных технологических платформ мультиплексного микропланшетного анализа по сравнению с технологией планарных (гидрогелевых) биочипов (Институт молекулярной биологии РАН) и суспензионной технологией Люминекс. Наибольший динамический диапазон выявляемых концентраций аналитов (5–6 log) обеспечивает технология MesoScaleDiscovery. Это обусловлено высокой чувствительностью системы детекции на основе электрохемилюминесценции рутениевых комплексов (0,2 молекулы метчика/ μ 2) и большой сорбционной емкостью твердой фазы из углеродсодержащего материала. Уровень мультиплексности этой технологии ограничен пространственным разрешением сигнала. Оптимальный размер микроэррея, не менее 0,5–0,7 мм, позволяет сформировать в лунке лишь до 10 микрозон. Технология производства микроэрреев достаточно сложна. Стоимость тестов высока и, как правило, выше или эквивалентна суммарной стоимости замещаемых иммуноферментных монотестов. Аналогичное ограничение по мультиплексности имеют микроэрреи на основе регистрации сигнала усиленной хемилюминесценции (Randox®). Динамический диапазон выявляемых концентраций аналитов существенно уже (3–4 log) из-за более высокого уровня фоновой люминесценции и сравнительно невысокой сорбционной емкости твердой фазы. На рынке эта технология представлена несколькими вариантами сканеров и панелью тестов для выявления широкого спектра маркеров инфекционных и соматических заболеваний. Сигнал хемилюминесценции нестабилен во времени, поэтому для количественных измерений требуется точное соблюдение всех

стадий анализа. Стоимость тестов достаточно высока и сопоставима с суммарной стоимостью соответствующих иммуноферментных монотестов. Ряд компаний (Abbot, Arrayit, Sensovation) ориентирован на серийное производство биочип-сканеров и выпуск биочипов на основе классических флуоресцентных меток (цианиновых красителей CY-3, CY-5, CY-7, красителей под торговой маркой ALEXA, флуоресцеина, родамина и т.п.) (www.abbot.com; www.arrayit.com; www.sensovation.com). Для создания биочипов в формате 96 луночного микропланшета им потребовалось выполнить дно планшета из низколуминесцирующих сортов стекла. Стоимость микропланшета с клееным стеклянным дном в 10–15 раз выше, чем у стандартного полистиролового микропланшета. Для приготовления микроэреев требуется специальная обработка поверхности стекла для снижения неспецифической сорбции и ковалентного связывания иммунореагентов, что дополнительно увеличивает стоимость. Тем не менее белковые микроэреи на основе классических флуорохромов применяют наиболее широко, т.к. стоимость тестирования с их помощью существенно ниже, чем совокупная стоимость набора соответствующих иммуноферментных монотестов. Иммуночипы с флуоресцентной детекцией могут иметь достаточно высокую плотность, однако с уменьшением размера микроэрея увеличивается вариабельность результатов и соответственно снижается точность.

Динамический диапазон выявления флуоресцентной метки заметно различается для разных моделей сканеров и в полной мере зависит от качества оптической системы прибора, типа фотоприемника, источника света и спектральной области возбуждения и эмиссии флуорохрома. Большинство микропланшетных сканеров обеспечивает выявление флуоресцентной метки на уровне 0,5–2 молекулы метчика/ μ^2 . Более высокую чувствительность (до 0,1 молекулы метчика/ μ^2 и ниже) обеспечивают только флуоресцентные сканеры для микроскопных слайдов, однако создание количественных тестов для микроскопного формата иммуночипов требует изготовления специальной оснастки для точного дозирования микрообразцов проб, что весьма проблематично. По-видимому, основная область применения таких иммуночипов — это обнаружение в пробах белков (антигенов), в том числе при диагностике инфекционных заболеваний, когда не требуется высокая производительность и точная количественная оценка.

Отечественная технология иммуночипов (табл. 7.12), разработанная Институтом молекулярной биологии РАН, основана на формировании на микроскопных стеклах микроэреев (диаметром 0,1 мм) на основе гидрогелей, образующих при полимеризации объемную структуру (Arenkov et al., 2000). Формирование объемной структуры позволяет увеличить сорбционную емкость в расчете на единицу площади и, соответственно, повышает уровень сигнала и расширяет динамический диапазон для сорбции аналитов. Однако недостатки, присущие мелкопористым гидрогелевым структурам (неспецифическая сорбция, длительная диффузия), по-видимому свели эти преимущества на нет. Аналитические характеристики этих иммуночипов не выделяются из общего ряда планарных иммуночипов, использующих те же флуоресцентные красители. Возможности этой

технологии продемонстрированы на примере анализа проб на наличие спектра бактериальных и грибковых токсинов или онкомаркеров (Грядунов и др., 2009; Саватеева и др., 2009) и свидетельствуют о невысокой точности и ограниченном динамическом диапазоне (не более 2–3 log) определения аналитов. Стоимость набора реагентов для выявления 8 онкомаркеров на основе иммуночипа сопоставима с совокупной стоимостью иммуноферментных монотестов.

Разработки иммуночипов, осуществляемые в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ совместно с компанией ООО «Интерлабсервис», по существу являются трансфером технологий известных в этой области компаний, таких как Perkin-Elmer, Abbot, Arrayit, Sensovation (табл. 7.12) и следуют в форватере их технологических достижений (www.interlabservice.com).

В сравнении с представленным рядом планарных технологий иммуночипов суспензионная технология Люминекс® также не имеет значимых преимуществ в аналитических характеристиках, но характеризуется существенно более низким коэффициентом вариации результатов количественного анализа. Это преимущество, однако, нивелируется, если в планарных иммуночипах используют 3–8-кратное дублирование эрреев. Стоимость тестирования с использованием суспензионных тестов при количестве выявляемых аналитов более 4 становится ниже, чем для суммы иммуноферментных монотестов аналогичного назначения, что создает ощутимые конкурентные преимущества для этой технологии.

ФГУП «ГосНИИ биологического приборостроения» ФМБА России и компания ЗАО «ИММУНОСКРИН» создали и развивают (Патенты РФ №№ 1707539, 2066455, 2184970, 2190208, 2197732) микропланшетную технологию иммуночипов ФОСФАН™ (www.immunoscreen.ru) (табл. 7.12). Технология основана на применении в качестве метчиков биомолекул длительно люминесцирующих Pt, Pd комплексов водорастворимых копро- и уропорфиринов. Специализированный сканер обеспечивает выделение сигнала флуоресценции этих метчиков со дна лунок стандартных полистироловых микропланшетов, отсекая фоновую флуоресценцию, что позволяет кардинально снизить фон пластика (полистирола) и других примесей. Аналитические характеристики сопоставимы с лучшими зарубежными технологиями по показателям чувствительности (0,3 молекулы метчика/ μ^2) и динамического диапазона (не менее 4–5 log); коэффициент вариации на уровне не выше 10–20% обеспечивается за счет 4-кратного дублирования микроэрреев. По экономическим параметрам ФОСФАН заметно превосходит все технологии люминесцентного микроанализа, перечисленные в таблице 7.12. Это обусловлено использованием стандартных полистироловых микропланшетов и связанных с ними методами подготовки иммуночипов. Стоимость тестирования по технологии ФОСФАН™ при выявлении 4 аналитов в 2–3 раза ниже совокупной стоимости 4 иммуноферментных монотестов. Детальное описание технологии ФОСФАН™ и результаты ее применения для серологической диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, и детекции антигенов возбудителей описаны в разделе 7.5.4.

Наборы реагентов, создаваемые на основе планарных иммуночипов, как правило, включают: микроскопные стекла или микропланшеты с нанесенными ми-

крорэрреями, вспомогательные растворы для анализа и промывки твердой фазы, наборы калибровочных и контрольных проб для проверки правильности работы иммуночипа, а также смеси специфических иммунореагентов и универсального проявляющего реагента с флуоресцентной меткой. В некоторых случаях, например для разделения сигналов от иммуноглобулинов различных классов, используют не один, а сразу несколько проявляющих реагентов, отличающихся по своим спектральным характеристикам.

Практически все люминесцентные биочип-сканеры имеют возможность регистрировать сигналы с биочипов в нескольких спектральных диапазонах, оптимальных для каждого из используемых метчиков.

Для повышения надежности и точности измерений во многих конструкциях иммуночипов используют микроэрреи, которые являются внутренними контрольными и калибровочными материалами по отношению к искомым анализам.

Процедура постановки анализа на иммуночипах с флуоресцентной детекцией сигнала практически полностью повторяет процедуру твердофазного иммуноферментного анализа. Отличие заключается в том, что на финальной стадии, после промывки иммуночипов водой и удаления несвязавшихся с твердой фазой компонентов, их подсушивают и только после этого осуществляют регистрацию сигнала. Флуоресценция с поверхности иммуночипа достаточно стабильна и воспроизводится даже после длительного их хранения (недели, месяцы и даже годы).

Для микропланшетного формата иммуночипов можно использовать линейку оборудования (вошеры, шейкеры, диспенсеры), используемые в лабораториях для постановки иммуноферментного анализа.

Учет и обработка результатов с биочипов осуществляется программными средствами. Важное условие для использования зарегистрированных коммерческих тестов — наличие программных средств автоматической обработки результатов. Ведущие мировые производители биочип-сканеров и биочипов, как правило, имеют и поставляют пользователям пакет таких программных средств.

7.5.3. Применение мультиплексных тестов для серологической и ПЦР диагностики природноочаговых инфекций

К настоящему времени опубликовано огромное число оригинальных работ и обзоров, демонстрирующих потенциал как планарных, так и суспензионных мультиплексных тестов в самых разных областях исследований (например Neuman de Vegvar, Robinson, 2004; Kumar, 2009; Weingart et al., 2012; Wellhausen, Seitz, 2012 и многие другие); показана также возможность создания комбинированных ДНК- и иммуночипов (Perrin et al., 2003; Asanov et al., 2012) и интегрированных белковых чипов для одновременного определения антигенов и антител (Xu et al., 2007). Значительный объем разработок посвящен созданию мультиплексных тестов для диагностики социально-значимых заболеваний, таких как ВИЧ, гепатиты, инфекции TORCH-комплекса (Mezzasoma et al., 2002; Zhang et al., 2002; Perrin et al., 2003; Bacarese-Hamilton et al.,

2004; Duan et al., 2005; Han et al., 2005; Pickering et al., 2007; Xu et al., 2007) и контроля иммунного статуса пациентов при вакцинации (Smits et al., 2012; Whitelegga et al., 2012). Остановимся лишь на некоторых наиболее интересных с нашей точки зрения публикациях, позволяющих составить представление о достижениях в области лабораторной диагностики инфекций с применением мультиплексных тестов.

Одно из наиболее важных и активно развивающихся направлений — использование мультианалитных систем в интересах обеспечения биологической безопасности. Разрабатываемые тесты предназначены для быстрого обнаружения в пробах из воды, воздуха, продуктов питания и клинических образцов возбудителей опасных инфекционных заболеваний (сибирской язвы, туляремии, сыпного тифа, клещевой пятнистой лихорадки, натуральной оспы и др.) и токсинов, которые могут представлять угрозу национальной безопасности при использовании в качестве биологического оружия или средства терроризма, и, кроме того, обуславливают заражение человека в природных очагах. Продемонстрирована эффективность детекции генетического материала возбудителей особоопасных инфекций (ООИ) в тестах на основе мультиплексной ПЦР (Leski et al., 2009; Goji et al., 2012; Pripuzova et al., 2012; Yang et al., 2012) и возможность обнаружения специфических антигенов (Осин и др., 2002, 2003, 2007а, б; Osin, Pomelova, 2008; Осин, Помелова, 2010; Kang et al., 2012) и токсинов (Delehanti, Ligler, 2002; Pauli et al., 2009; Garber et al., 2010; Lian et al., 2010; Simonova et al., 2012; Weingart et al., 2012) в тестах на основе белковых чипов. Разработаны также иммуночипы для выявления антител к возбудителям опасных инфекций (Li et al., 2005; Parthasarathy et al., 2006).

В последние несколько лет как в России, так и за рубежом активно разрабатываются мультиплексные тесты для диагностики заболеваний группы ИКБ, клещевого энцефалита, гранулоцитарного анаплазмоза человека (табл. 7.13). Основное число разработок посвящено созданию мультиплексных тестов для дифференциальной серологической диагностики арбовирусных инфекций и заболеваний группы ИКБ у людей и животных. Основные результаты, полученные при диагностике КЭ и ИКБ с использованием биочип-технологии ФОСФАН, представлены ниже в разделе 7.5.4.

Таблица 7.13. Характеристика мультиплексных тестов для диагностики КЭ, ИКБ, ГАЧ

Выявляемый маркер	Назначение	Матрикс	Система детекции	Ссылка
РНК/ДНК	Детекция <i>A.phagocytophilum</i> и <i>B.burgdorferi</i> в клеточных культурах и собранных в природе клещах		Мультиплексная qПЦР	Courtney et al., 2004
	Детекция анаплазм и эрлихий в периферической крови		Мультиплексная РТ-qПЦР	Sirigireddy et al., 2004
	Быстрое генотипирование изолятов вируса КЭ		Мультиплексная РТ-ПЦР	Ruzek et al., 2007

Таблица 7.13. Окончание

Выявляемый маркер	Назначение	Матрикс	Система детекции	Ссылка
Антигены	Выявление и дифференциация антигенов вируса КЭ	96-луночный планшет с сорбированными вирусспецифическими антителами	ФОСФАН / Str-PtCP/Диagem	Осин и др., 2007а
	Выявление антигенов 5 арбовирусов (КЭ, ЯЭ, ВcЭЛ, Денге, Синдбис)	96-луночный планшет с сорбированными МКА	ИФА/Str-ПХ/ специальный субстрат / ССD камера	Kang et al., 2012
	Выявление и дифференциация антигенов вирусов КЭ, ВЭЛ, ЯЭ, осповакцины	96-луночный планшет с сорбированными вирусспецифическими антителами	ФОСФАН / Str-PtCP / Диagem	Быченкова и др., 2013
	Выявление антигенов вируса КЭ и <i>B. burgdorferi sensu lato</i>	Тест-полоска с сорбированными специфическими антителами	Иммунохроматография / совмещено с устройством для удаления и перемалывания клеща	Экспресс-тест., 2013
Антитела	Выявление IgM к вирусам ЛЗН и СЛЭ	Микросферы с сорбированными группоспецифическими МКА	Люминекс / фикоэритрин / проточный цитофлуориметр BioPlex	Johnson et al., 2005
	Выявление IgM и IgG к <i>B. burgdorferi sensu lato</i> в сыворотках людей	Микроскопные слайды с микрозонами из 16 рекомбинантных белков боррелий	Флуоресценция ФИТЦ / ТРИТЦ	Маркелов и др., 2006
	Выявление и дифференциация IgG к вирусам КЭ, ЗН, ККГЛ	96-луночный планшет / микрозоны, содержащие комплекс МКА+САА вирусов	ФОСФАН / Str-PtCP/Диagem	Помелова и др., 2009в; 2010а, б
	Выявление IgM и IgG к <i>B. burgdorferi sensu lato</i> в сыворотках людей	96-луночный планшет / микрозоны, содержащие рекомбинантные и пептидные антигены боррелий	ФОСФАН / Str-PtCP / Диagem	Помелова и др., 2009б; 2010в; 2013
	Выявление IgM и IgG к <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> в сыворотках людей	Микросферы, покрытые рекомбинантным белком VlsE и пептидом рерС10	Люминекс / фикоэритрин / проточный цитофлуориметр BioPlex	Porwancher et al., 2011
	Выявление IgG к <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> в сыворотках собак и лошадей	Микросферы, покрытые рекомбинантными белками OspA, OspC, OspF	Люминекс / фикоэритрин / проточный цитофлуориметр BioPlex	Wagner et al., 2011a,b
	Выявление IgG к <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> в сыворотках собак	Микросферы, покрытые рекомбинантными белками OspA, OspC, OspF и пептидом С6	Люминекс / фикоэритрин / проточный цитофлуориметр BioPlex	Wagner et al., 2012

7.5.4. Фосфоресцентный анализ (ФОСФАН)

Впервые возможность использования комнатно-температурной длительной люминесценции металлопорфиринов для иммуноанализа была продемонстрирована Н. С. Осиним и др. (1985). Эта работа послужила основой для создания нового направления фосфоресцентного иммуноанализа, наибольший вклад

в развитие которого внесли российские ученые (Савицкий и др., 1989; Осин и др., 1990). Химический синтез водорастворимых Pt копро- и уропорфиринов был впервые осуществлен в начале 90-х годов прошлого века (Осин и др., 1992, 1996). Синтезированные соединения превосходили все известные длительно люминесцирующие вещества, такие как комплексоны ионов лантаноидов и палладиевые комплексы металлопорфиринов по показателю светимости (φ) и, кроме того, обладали узкими, далеко разнесенными полосами возбуждения и эмиссии люминесценции. Эти свойства, в сочетании с длительным временем излучения, позволяли регистрировать люминесценцию в режиме временного разрешения, в результате чего удавалось существенно снизить пороговый уровень их обнаружения. Важное свойство Pt порфиринов, инкорпорированных в состав иммунных комплексов, — отсутствие заметного тушения их люминесценции после высушивания биоматериала, что обеспечивает возможность регистрации сигнала непосредственно с твердой фазы полимерных носителей (Осин и др., 2002). Совокупность указанных свойств Pt порфиринов определила их выбор в качестве универсальных метчиков для мультианалитических систем с фосфоресцентной детекцией сигнала и была положена в основу разработки новой отечественной биочип-технологии на основе твердофазного фосфоресцентного микроанализа (ФОСФАН). Ключевые элементы технологии ФОСФАН — приборы для регистрации фосфоресценции (фосфоресцентные сканеры), нанодозирующие устройства для «печати» микрозон на дне лунок планшетов (наноплоттеры), диагностические тесты (фосфоресцентные биочипы) и методики анализа разработаны в ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России совместно с ЗАО «ИММУНОСКРИН» (г. Москва) и защищены российскими патентами (№ № 1707539, 2066455, 2184970, 2190208, 2197732).

В отличие от других биочип-технологий, проведение анализа методом ФОСФАН осуществляется в лунках обычного полистиролового планшета аналогично постановке ИФА. На дне каждой микролунки «напечатаны» от 4 до 16 микропятен (микрозон или микроэреев) диаметром от 0,1 до 0,7 мм. Каждое микропятно содержит иммобилизованные иммунореагенты (моноклональные или поликлональные антитела, рекомбинантные или пептидные антигены, олигонуклеотидные зонды), способные к улавливанию из обследуемой пробы специфических антител, антигенов или продуктов амплификации ДНК возбудителей вирусных и/или бактериальных инфекций. Методики иммунофосфоресцентного микроанализа обеспечивают био-специфическое связывание и концентрирование аналитов из сыворотки, плазмы или высушенной на фильтровальной бумаге крови в микрозонах на дне лунки планшета. Для мечения биомолекул используются длительно люминесцирующие (фосфоресцирующие) при комнатной температуре водорастворимые Pt копро- и Pt уропорфирины (Осин и др., 1992, 1996). Благодаря уникальным свойствам этих метчиков обеспечивается возможность измерения фосфоресцентного сигнала в режиме временного разрешения путем сканирования дна высушенной микролунки с помощью специализированного сканера (Соколов и др., 2002). При этом чувствительность приборной

системы детекции составляет около 1000 молекул Рt копропорфирина в освещиваемой площадке сканирования диаметром 30 мкм (Осин, Соколов, 2003).

Применение ФОСФАН для решения ряда актуальных научных и практических задач показало (Осин и др., 2007а, б; Osin, Pomelova, 2008; Помелова и др., 2009а, б, в; 2010а, б, в; 2013), что этот подход может рассматриваться в качестве универсальной технологической платформы для проведения исследований в области биологической защиты, контроля токсикантов в окружающей среде, клинической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний.

Принцип проведения ФОСФАН. Построение диагностических тестов на основе этой технологии достаточно универсально (Осин и др., 2007а, б; Osin, Pomelova, 2008; Осин, Помелова, 2010). На дне лунки стандартного полистиролового микропланшета сорбируют в виде отдельных микрозон первые связывающие реагенты, в качестве которых могут быть использованы специфические антитела, рекомбинантные и (или) пептидные антигены, ковалентно (или адсорбционно) связанные с поверхностью дна лунки ДНК-зонды. «Печать» микрозон на дне микролунки осуществляется с помощью роботизированных наноплоттеров (рис. 7.3А) контактным или бесконтактным способом. Компания ЗАО «ИММУНОСКРИН» разработала и использует наноплоттер для контактной печати с максимальной плотностью в лунке микропланшета 64 микрозоны (Ø 0,2 мм) на площадке 3,8 x3,8 мм. Для игл Ø 0,5 мм плотность ниже и составляет 16 микрозон на лунку.

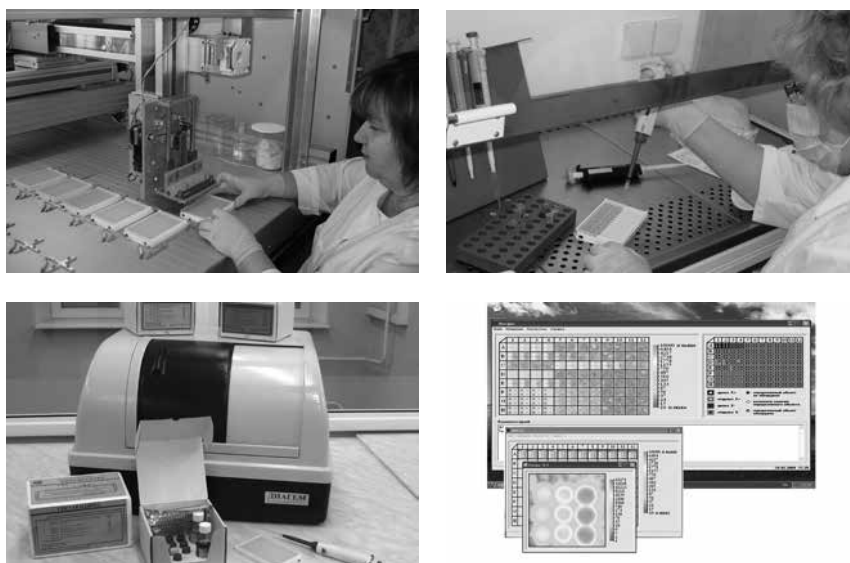


Рис. 7.3. Технология иммуночипов ФОСФАН™

А — «печать» микропятен на дне лунки планшета.

Б — проведение диагностических исследований на иммуночипах, сформированных в лунках микропланшетов.

В — флуоресцентный сканер ИФИ-03 (Диагем).

Г — презентация результатов анализа.

Режим нанесения первых биоспецифических реагентов и количество материала, используемого для формирования микрозон, определяются конкретными задачами. При определении специфических антител или антигенов возбудителей инфекционных заболеваний для повышения чувствительности и расширения динамического диапазона выявляемых концентраций оптимальны микрозоны диаметром 0,5–0,7 мм. Для обнаружения в пробах отдельных клеток микроорганизмов площадь специфической адсорбции должна быть существенно увеличена; в этом случае улавливающие антитела иммобилизуют на всей поверхности дна лунки планшета. Для создания ДНК-зондов формируют микрозоны диаметром 0,1 мм.

Проведение анализа методом ФОСФАН осуществляется в лунках обычного полистиролового планшета (рис. 7.3Б). Стадии анализа включают инкубацию анализируемой пробы в лунках планшета, промывание лунок для удаления несвязавшихся компонентов реакции, биоспецифическое связывание выявляемого в пробе аналита со вторыми (индикаторными) антителами (или ДНК-зондом), конъюгированными с биотином. «Проявление» реакции осуществляется с помощью универсального реагента — конъюгата стрептавидина с Pt копропорфирином. Оптимальное соотношение сигнал/фон достигается при восьми–десятикратной молярной нагрузке метки на белок. Перед измерением лунки промывают дистиллированной водой и высушивают под струей воздуха.

Сигнал флуоресценции регистрируют с помощью флуоресцентных сканеров (рис. 7.3В), характеристики которых в сравнении с последней разработкой ЗАО «ИММУНОСКРИН и ФГУП «ГосНИИБП» — ИФИ-04 (Биочип) представлены в табл. 7.14.

Таблица 7.14. Характеристика микропланшетных флуоресцентных сканеров (ГосНИИБП, ЗАО «ИММУНОСКРИН»)

Параметр	Тип прибора			
	ИФИ-02	ФОСФАН	ДИАГЕМ (ИФИ-03)	БИОЧИП (ИФИ-04)
Тип 96-луночных микропланшетов	Labsystems, Nunk	Labsystems, Nunk	Labsystems, Nunk	Labsystems, Nunk
Размеры светового луча возбуждающего излучения, мм	∅ 0,18; ∅ 0,03	∅ 0,5	0,05x0,2	∅ 0,1
Источник возбуждающего излучения	Импульсный лазер λ 532нм	Светодиод λ 375нм	Лазерный диод λ 375нм	Лазерный диод λ 375нм
Мощность источника света, мВт	5	20	20	100

Таблица 7.14. Окончание

Параметр	Тип прибора			
	ИФИ-02	ФОСФАН	ДИАГЕМ (ИФИ-03)	БИОЧИП (ИФИ-04)
Шаг сканирования, мм	0,05–0,12	0,15	0,05	0,03
Время сканирования микропланшета, мин	40	18	23	23
- ускоренный режим, мин	-	-	15	6
Метчики и номинальные длины волн регистрации	-	615 нм, 645 нм,	615 нм,	615 нм,
Хелаты ионов Eu	645 нм	665 нм	653 нм,	653 нм,
Pt порфирины	-	-	670 нм	670 нм
Pd порфирины	-	-	-	-
Порог обнаружения метчика, молекул/мкм ²	1	1	0,3-0,6	0,3-0,6
Количество микроэрреев в лунке	9	4	16	64
Коэффициент вариаций по контрольному образцу, не более, %	7	7	3	3
Линейный динамический диапазон сигнала	> 1000	> 3000	> 10000	> 10000
Диапазон регистрации сигнала в режиме временного разрешения, 10 ⁻⁶ сек	30–100	5-2000	5-2000	5-10000
Габаритные размеры, мм	595x460x395	710x500x300	635x470x410	510x430x290
Масса, кг	45	50	40	30
Возможность многократного транспортирования	нет	нет	нет	есть

Приборы «Диagem» и «Биочип» последнего поколения имеют очевидные преимущества по сравнению с более ранними вариантами фосфоресцентных сканеров: более высокую чувствительность детекции (0,3 молекулы метки/кв.микрон); увеличение числа микрозон на поверхности дна микролунки (до 16–64); широкий динамический диапазон (> 10000); сниженное влияние соседних пятен на показания прибора (0,1 %). Результаты сканирования регистрируют как число фотоимпульсов от каждой микрозоны. После компьютерной обработки картина распределения сигнала фосфоресценции по поверхности дна лунки представляет собой окрашенные микрозоны, число которых зависит от дизайна биочипа (рис. 7.3Г). Интенсивность сигнала пропорциональна концентрации аналита в микрозоне и для удобства анализа изображений представлена на этом рисунке в виде шкалы цветов.

Применение ФОСФАН для детекции патогенов. Учитывая большое разнообразие патогенов, которые способны одновременно существовать в экосистеме, возможность микст-инфицирования человека при контакте с переносчиками, зараженными одновременно несколькими возбудителями (раздел 5), а также потенциальную опасность использования ряда агентов в целях биотерроризма, целесообразность использования биочип-технологии ФОСФАН при решении задач специфической индикации для выявления в пробах одного или нескольких патогенов представляется очевидной. К настоящему времени на основе технологии ФОСФАН разработаны тесты (флуоресцентные иммуночипы) для детекции возбудителей ряда вирусных, бактериальных инфекций и токсинов (Осин и др., 2003, 2007а, б; Osin, Pomelova, 2008). Порог детекции патогенов бактериальной группы (измерение на приборе ИФИ-02) составил примерно 1000 м.т./мл с освещаемой площадки размером 200×200 мкм (Осин и др., 2007б; Osin, Pomelova, 2008). Достигнутый уровень чувствительности был сопоставим с показателем метода лантанидной иммунофлуоресценции (ЛИФА), в котором также используются длительно люминесцирующие метки (хелаты ионов европия) и принцип регистрации сигнала с временным разрешением, и существенно превосходил чувствительность ИФА на мембранных фильтрах (Осин и др., 2003).

При детекции специфических антигенов вируса КЭ продемонстрирована одинаковая дифференцирующая способность методов ФОСФАН и ЛИФА (Осин и др., 2007а). Поликлональные мышинные антитела в составе «сэндвич»-антител в обоих тестах взаимодействовали не только с антигеном гомологичного штамма 4072, но и с другими штаммами вируса КЭ и вирусами одноименного комплекса, а также с вирусами лихорадки Западного Нила (ЛЗН) и японского энцефалита (ЯЭ). Выраженность перекрестных реакций соответствовала известным данным о степени антигенного родства между исследованными штаммами и вирусами комплекса КЭ, а в случае вирусов ЛЗН и ЯЭ определялась наличием группоспецифического эпитопа. В этих опытах ФОСФАН оказался примерно в четыре раза более чувствительным, чем ЛИФА, при близком показателе специфичности (95–100%).

Минимальная концентрация антигена, детектируемая в ФОСФАН, может быть снижена примерно на порядок (до 100 м.т./мл) при регистрации флуоресценции с освещаемой площадки меньшего размера, 30×30 мкм (диаметр лазерного луча 30 мкм, шаг сканирования 30 мкм, прибор ИФИ-02). В этом случае первичные улавливающие антитела должны покрывать целиком поверхность дна лунки, при сканировании которой осуществляется регистрация сигнала (Осин и др., 2007б).

Для практического использования в работе медико-санитарных учреждений и противочумных станций разработан комплект индикаторных средств «КИС-ФОСФАН» для одновременного выявления в пробах специфических антигенов возбудителей ООИ вирусной и бактериальной природы (таких как чума, туляремия, венесуэльский энцефаломиелит лошадей, лихорадка Западного Нила и др.) и ряда токсинов (Быченкова и др., 2013). Комплект включает набор реагентов для выявления 12 патогенов, представляющих опасность при аэрозольном способе

распространения, и вспомогательные средства для отбора проб и постановки иммуноанализа. В состав набора реагентов входят 3 планшета с «напечатанными» на дне лунок иммуночипами, положительные и отрицательные контроли, промывной раствор, реакционный буфер, конъюгаты специфических антител с биотином и проявляющий реагент, в качестве которого используется стрептавидин, конъюгированный с фосфоресцентным метчиком Pt-копропорфирином. Интенсивность фосфоресценции с иммуночипов регистрируется с помощью специализированного сканера «Диагем». Испытания комплекта проведены на модельных системах, в качестве которых использованы живые микробные клетки и вирусы из коммерческих препаратов живых вакцин, а также экспериментальные образцы охарактеризованных препаратов токсинов. Показано, что «КИС-ФОСФАН» обеспечивает возможность одновременного высокоспецифичного обнаружения патогенов в концентрации примерно 10^3 – 10^4 м.т./мл, что соответствует показателю, достигнутому при раздельном тестировании в монотестах.

Применение ФОСФАН для выявления фрагментов кДНК (на примере вируса КЭ). Возможность выявления фрагментов кДНК гибридизационным методом с фосфоресцентной системой детекции продемонстрирована на примере вируса КЭ (Осин и др., 2007а). Анализ проводили в полистироловых планшетах, на поверхности дна лунок которых был адсорбирован конъюгированный с белком-носителем олигонуклеотидный зонд в виде микрозоны диаметром примерно 0,1 мм. Специфическая нуклеотидная последовательность этого зонда была комплементарна участку последовательности фрагмента кДНК вируса КЭ, полученного в результате амплификации в разработанной на основе ПЦР тест-системе. В процессе анализа денатурированные амплифицированные фрагменты кДНК вируса КЭ гибридизовались одновременно с олигонуклеотидом, иммобилизованным на дне лунки, и вторым, биотинилированным, зондом в растворе. Нуклеотидная последовательность биотинилированного зонда была подобрана таким образом, чтобы его гибридизация с кДНК вируса КЭ происходила в месте, максимально удаленном от сайта связывания первого зонда. Детекция образующегося в результате гибридизации биотинилированного гибрида проводилась с помощью конъюгата Str-PtCP, регистрация фосфоресценции — путем сканирования поверхности дна лунки планшета с помощью прибора ИФИ-02. Результаты гибридизации зависели от длины анализируемой кДНК, специфичности олигонуклеотидных зондов, температуры, при которой проводилась гибридизация, состава гибридизационной смеси. Предел специфической детекции фрагментов амплифицированной кДНК соответствовал разведению амплификационной смеси примерно в 100000 раз.

Диагностическая эффективность ФОСФАН при серологической диагностике КЭ и ИКБ.

Разработаны фосфоресцентные иммуночипы для выявления IgM, IgG антител к вирусу КЭ (Помелова и др., 2009а) и возбудителям иксодовых клещевых боррелиозов (Помелова и др., 2010в). Оценка их диагностической эффективности проведена в сравнении с коммерческими тест-системами производства ЗАО

«Вектор-Бест», г. Новосибирск (определение антител к вирусу КЭ) и компании Immunetics, США (определение антиборрелиозных антител).

При параллельном обследовании методами ФОСФАН и ИФА 155 сывороток людей, больных КЭ, доля положительных проб с IgM в ФОСФАН составила 84,5 %, что несколько (хотя и недостоверно) превышало аналогичный показатель ИФА (78,7 %) (табл. 7.15).

Таблица 7.15. Результаты выявления IgM к вирусу КЭ в сыворотках больных КЭ, пациентов контрольной группы (С) и клинически здоровых доноров (Д) методами ФОСФАН, ЛИФА и ИФА (данные В.Г. Помеловой и др., 2009а)

Группа (клиническая форма КЭ)	Число исследованных		Доля сывороток с положительным (в группах КЭ) или отрицательным (в группах С, Д) результатом выявления антител к вирусу КЭ методом						СГТ, log ₂
	пациентов	сывороток	ФОСФАН		ЛИФА		ИФА		
			Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Больные КЭ, в том числе	74	155	131	84,5 (75,5-92,1)*	130	83,9 (74,7-91,3)	122	78,7 (70,8-86,4)	12,4 (12,3-13,0)
- лихорадочная форма	33	68	51	75,0 (65,1-83,4)	50	73,5 (64,2-82,3)	46	67,6 (56,4-74,3)	11,0 (10,2-11,9)
- менингеальная форма	41	87	80	92,0 (82,5-100)	80	92,0 (82,5-100)	76	87,4 (79,4-95,4)	13,5 (12,4-14,1)
- длительно болеющие пациенты	19	21	9	43,0 (17,2-68,8)	8	38,0 (12,6-63,5)	4	19,0 (0-40,4)	9,4 (8,4-10,4)
Пациенты группы С с заболеваниями иной этиологии (не КЭ)	41	106	106	100	104	98,0	106	100	н.и.
Доноры	132	132	131	99,2	131	99,2	131	99,2	н.и.

* в скобках – 95% доверительный интервал; СГТ — среднегеометрический титр антител; н.и. — не исследовали

Вместе с тем наблюдавшиеся преимущества в чувствительности ФОСФАН были очевидны при исследовании сывороток с достоверно более низкими значениями среднегеометрических титров (СГТ) специфических IgM (табл. 7.15); такие сыворотки были получены от больных с лихорадочной формой КЭ и от длительно болеющих КЭ пациентов, а также на поздних сроках от начала заболевания КЭ (рис. 7.4).

При выявлении IgM антител к вирусу КЭ в сыворотках контрольной группы (больные сезонными заболеваниями иной этиологии) и доноров крови специфичность обоих методов была высокой, от 98 до 100 % (табл. 7.15), а их результаты совпали примерно в 95 % случаев (Помелова и др., 2009а).

При параллельном обследовании 153 сывороток пациентов с эритемной или безэритемной формой ИКБ методами ФОСФАН и ИФА доля положительных проб с IgG в ФОСФАН составила 70 % (63–77 %); в тесте С6 ELISA Immunetics,

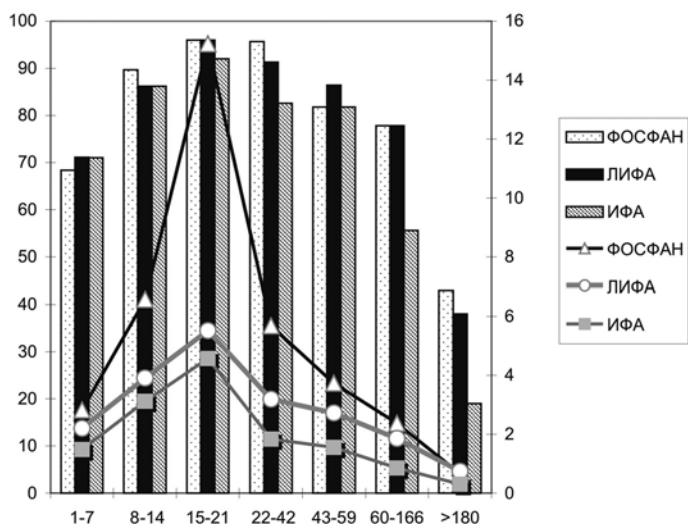


Рис. 7.4. Изменение доли (гистограмма) и коэффициентов позитивности (кривые) положительных сывороток, содержащих специфические IgM на разных сроках от начала заболевания КЭ, при анализе методами ФОСФАН, ЛИФА и ИФА (по данным В.Г. Помеловой и др., 2009а).

Ось абсцисс: срок от начала заболевания КЭ, в днях. Ось ординат (левая): доля положительных проб с IgM, в %. Ось ординат (правая): значения Коэф., в относительных единицах

который выявляет антитела обоих классов, зарегистрирован близкий показатель чувствительности (табл. 7.16).

Таблица 7.16. Чувствительность и специфичность тестов Лаймплекс 14-ФОСФАН и С6 ELISA Immunetics при выявлении антиборрелиозных антител в сыворотках больных ИКБ, пациентов с иными заболеваниями и доноров (данные В.Г. Помеловой и др., 2010в)

Группа	Исследовано сывороток	Число (%) положительных проб в тесте:	
		Лаймплекс 14-ФОСФАН	С6 ELISA Immunetics
Больные ИКБ	153	107 (69,9) [63–77]	109 (71,2) [64–79]
Из них: –с эритемной формой ИКБ	129	90 (69,8) [62–78]	92 (71,3) [63–79]
–с безэритемной формой ИКБ	24	17 (70,8) [52–89]	17 (70,8) [52–89]
Контрольная группа «С»	203	15 (7,4)	17 (8,4)
Из них с клиническим диагнозом:			
- ангина и т.п.	30	0 (0,0)	0 (0,0)
- сальмонеллез	27	1 (3,7)	2 (7,4)
- положительный ревматоидный фактор	29	3 (10,3)	5 (17,2)
- инфекция вирусом Эпштейн-Барра	30	2 (6,7)	2 (6,7)
- лептоспироз	27	1 (3,7)	0 (0,0)
- сифилис	60	8 (13,3)	8 (13,3)
Клинически здоровые доноры	100	1 (1,0)	2 (2,0)

В квадратных скобках — 95% доверительный интервал доли положительных проб

Специфичность ФОСФАН (обследовано 303 сыворотки от пациентов контрольной группы и доноров крови) составила от 93 до 99 %; специфичность американской тест-системы была несколько ниже (табл. 7.16), хотя наблюдаемые различия были статистически недостоверны ($p > 0,05$). Наибольшее число ложноположительных результатов было зарегистрировано при анализе проб от больных сифилисом (до 13 %) и пациентов с положительным ревматоидным фактором (до 13 % в ФОСФАН и до 17 % в ИФА) (Помелова и др., 2010в).

По данным ФОСФАН, характер изменения доли положительных сывороток с IgM в группе больных КЭ на разных сроках от начала заболевания (на каждом сроке исследовано от 21 до 48 проб) соответствовал результатам ИФА и полученным нами ранее (Помелова и др., 2006а) данным (рис. 7.4). Нарастание или снижение доли положительных сывороток коррелировало с изменением величины СГТ специфических IgM и средних значений коэффициентов позитивности ($K_{\text{поз.}}$) (рис. 7.4).

Аналогично характер изменения доли положительных сывороток с IgG на разных сроках от начала заболевания ИКБ (на каждом сроке исследовано от 16 до 29 проб) в ФОСФАН соответствовал результатам теста С6 ELISA Immunetics (рис. 7.5). Максимальное число положительных проб выявлялось на второй (примерно 83 %)–третьей (98 %) неделе болезни, удерживалось на этом высоком уровне до 60-го дня, затем снижалось. Нарастание или снижение доли положительных сывороток коррелировало с изменением медианы значений $K_{\text{поз.}}$ специфических антител (рис. 7.5).

Значения $K_{\text{поз.}}$ в ФОСФАН были существенно выше ($p < 0,05$), чем в ИФА, практически на всех сроках заболевания за исключением самого раннего и самого позднего периода (рис. 7.4; 7.5). Эти данные свидетельствуют о достижении в ФОСФАН лучшего соотношения сигнал/фон, что является основой повышения надежности серологического тестирования в формате фосфоресцентного иммуночипа.

Применение ФОСФАН для выявления и дифференциации иммуноглобулинов IgG к арбовирусам. Разработаны фосфоресцентные иммуночипы для одновременного выявления и дифференциации специфических IgG антител к вирусам клещевого энцефалита и Западного Нила (Помелова и др., 2010а), Конго-Крымской геморрагической

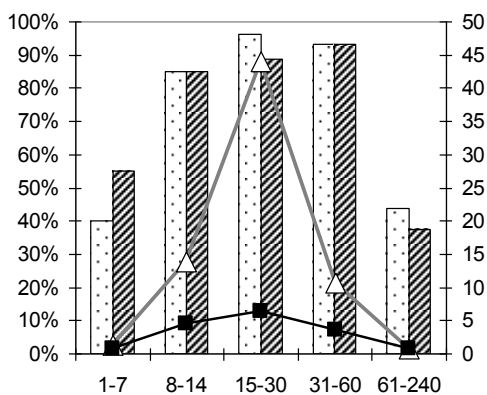


Рис. 7.5. Изменение доли (гистограммы) и медианы значений коэффициента позитивности (кривые) положительных сывороток при выявлении специфических IgG у больных ИКБ на разных сроках от начала заболевания в тестах ФОСФАН (темные столбики и треугольники) и ИФА (светлые столбики и квадраты) (по данным В.Г. Помеловой и др., 2010в).

Ось абсцисс: срок от начала заболевания ИКБ, в днях. Ось ординат (слева): доля положительных проб, в %. Ось ординат (справа): значения медианы коэффициента позитивности, в относительных единицах.

лихорадки и Западного Нила (Помелова и др., 2010б), клещевого энцефалита, Конго-Крымской геморрагической лихорадки и Западного Нила (Помелова и др., 2009в). Чувствительность и специфичность анализа во всех вариантах мультиплексных тестов была сопоставима с показателями ИФА при раздельном тестировании проб.

Для дифференциации группоспецифических IgG антител к флавивирусам ЛЗН и КЭ в перекрестно-реагирующих сыворотках использовали критерий не менее чем 2-кратного превышения коэффициента позитивности (или значений P/N) обследуемой сыворотки с гомологичным антигеном над значением этого коэффициента с гетерологичным антигеном (Помелова и др., 2009в, 2010а) по аналогии с подходом, применяемым в ИФА (Распопин и др., 2006). С помощью разработанного иммуночипа были исследованы 117 сывороток крови от больных ЛЗН или КЭ, а также от клинически здоровых доноров крови (Помелова и др., 2010а). IgG антитела к вирусу ЛЗН были выявлены в 60 (51 ± 9%), к вирусу КЭ — в 51 (44 ± 9%) из 117 проб, что соответствовало данным ИФА, полученным при тестировании проб из групп ЛЗН и КЭ с гомологичными антигенами. Из числа положительных проб 15 сывороток больных ЛЗН, 24 сыворотки больных КЭ и 10 сывороток доноров (всего 49 проб) взаимодействовали с антигенами обоих флавивирусов (рис. 7.6).

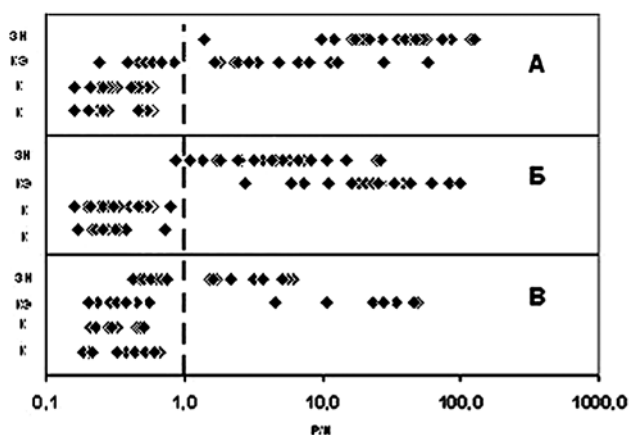


Рис. 7.6. Значения P/N сывороток от больных ЛЗН (А), КЭ (Б) и доноров (В) в тесте на основе ФОСФАН (по данным В.Г. Помеловой и др., 2010а).

По оси ординат: антигены вирусов ЛЗН и КЭ или контрольные микрозоны (К).

По оси абсцисс: значения P/N, в lg.

Значения P/N проб группы ЛЗН составили от 17 до 124 с гомологичным антигеном и от 1,6 до 59 с гетерологичным антигеном (рис. 7.6А). Значения этого показателя для сывороток группы КЭ лежали в диапазоне от 3 до 100 с гомологичным антигеном и от 1,1 до 26 с гетерологичным антигеном (рис. 7.6Б); для сывороток доноров — от 4,4 до 49 с антигеном вируса КЭ и от 1,5 до 6 с антигеном вируса ЛЗН (рис. 7.6В).

Значения P/N проб группы ЛЗН были, в среднем, в 13,4 раза выше ($p < 0,0001$) с антигеном гомологичного вируса, чем с антигеном гетерологичного вируса (табл. 7.17).

Таблица 7.17. Значения P/N положительных сывороток, содержащих группоспецифические IgG, при взаимодействии с антигенами вирусов ЛЗН и КЭ в ФОСФАН (жирным шрифтом выделены гомологичные реакции; по данным В.Г. Помеловой и др., 2010а)

Группа сывороток	n	Значение медианы P/N с антигеном:		Отношение между значениями P/N с гомологичным и гетерологичным антигеном
		вируса ЛЗН	вируса КЭ	
ЛЗН	15	48,0 [16,6; 124] *	3,4 [1,6; 59]	13,4 [1,7; 32]
КЭ	24	4,3 [1,4; 25,6]	26,0 [5,9; 81,8]	5,4 [1,6; 14,1]
Доноры	10	3,4 [1,6; 6,1]	28,0 [10,8; 49]	10,6 [4,2; 17,0]

* в скобках — значение 5–95 перцентиля значений медианы P/N

Значения P/N проб группы КЭ были в среднем в 5,4 раза выше ($p < 0,0001$) с антигеном гомологичного вируса, чем с антигеном гетерологичного вируса (табл. 7.17). По критерию 2-кратной (или более) разницы в значениях P/N с гомологичным и гетерологичным антигеном природа инфицирующего вируса была правильно определена для 22 из 24 (92%) сывороток больных КЭ и 15 из 17 (88%) сывороток больных ЛЗН. Не удалось идентифицировать только 4 пробы, для которых соотношение P/N с гомологичным и гетерологичным антигеном было менее 2. Полученные данные показали, что иммуночип на основе микропланшетной технологии ФОСФАН может быть использован для одновременного выявления в сыворотках крови людей специфических IgG антител к двум родственным флавивирусам: ЛЗН и КЭ без снижения чувствительности по сравнению с результатами отдельного тестирования проб в ИФА. Благодаря использованию панели охарактеризованных сывороток от больных ЛЗН и КЭ, в которых наличие антител к каждому из флавивирусов было выявлено в ИФА, удалось правильно установить видовую принадлежность антител при анализе примерно 90% сывороток этих групп.

Наличие группоспецифических IgG антител было также установлено в 10 из 11 положительных сывороток от клинически здоровых доноров. Значения P/N этих проб были достоверно ($p < 0,001$) выше с антигеном вируса КЭ, чем с антигеном вируса ЛЗН (табл. 7.17), что согласуется с данными ИФА о выявлении в них IgG антител к вирусу КЭ. Поскольку сыворотки доноров были получены от жителей Пермского края, наличие в них IgG скорее всего отражало контакты с вирусом КЭ, имевшие место в прошлом.

Таким образом, технология ФОСФАН позволяет выявлять и дифференцировать IgG антитела к арбовирусам при исследовании одной пробы сыворотки, что

обеспечивает экономию биоматериала и является преимуществом по сравнению с ИФА. Мультиплексные тесты на основе ФОСФАН обеспечивают миниатюризацию формата иммуноанализа и возможность параллельных исследований при анализе реактивности проб с антигенами различных вирусов в одной лунке планшета, в которую может быть также включен внутренний контроль специфичности, что является дополнительным преимуществом. Разработанный подход, по всей видимости, применим и для других арбовирусных инфекций, что может существенно облегчить их серологическое подтверждение, дифференциальную диагностику и изучение иммуноструктуры населения эндемичных территорий.

Применение ФОСФАН для выявления спектра антител при серологической диагностике ИКБ. Разработан фосфоресцентный иммуочип для определения спектра IgG антител к *B.burgdorferi sensu lato* при подтверждающей серологической диагностике ИКБ (Помелова и др., 2009б, 2010в, 2013). В качестве основных компонентов иммуочипа использованы пептиды С6 из поверхностного белка VlsE двух или трех геновидов боррелий и рекомбинантные белки VlsE и OspC.

IgG антитела были выявлены (табл. 7.18) примерно в половине проб группы «ИКБ», собранных сразу после поступления пациента в стационар (исследовано 22 сыворотки), и примерно в 80% проб этой группы, полученных на более поздних сроках болезни (исследовано 48 проб). Статистически значимые различия в чувствительности выявления специфических IgG с пептидными антигенами и рекомбинантным белком VlsE отсутствовали. Сыворотки контрольных групп (n = 110) были, в основном, отрицательными, подтверждая высокую специфичность исследования.

Таблица 7.18. Доля (%) положительных сывороток у больных ИКБ, пациентов контрольной группы и доноров, выявленная в тесте Лаймплекс 33-ФОСФАН (данные В.Г. Помеловой и др., 2010в)

Группа	Исследовано сывороток	Выявлены IgG с антигеном:				Выявлены IgM с антигеном:			
		С6 _{B.garinii}	С6 _{B.b.s.s.} ^{а)}	recVlsE	любой из трех	С6 _{B.garinii}	С6 _{B.b.s.s.}	recVlsE	любой из трех
Больные ИКБ ^{б)} при поступлении в стационар	22	9 (41) [21–64]	12 (55) [32–76]	10 (45) [24–68]	13 (59) [36–79]	5 (23) [8–45]	4 (18) [5–40]	3 (14) [3–35]	6 (27) [11–50]
Больные ИКБ ^{б)} в стадии реконвалесценции	48	37 (77) [65–89]	38 (79) [67–91]	39 (81) [69–93]	40 (83) [71–95]	9 (19) [8–30]	10 (21) [10–32]	5 (10) [1,5–18]	11 (23) [12–34]
Контрольная группа	60	4 (7)	2 (3)	1 (2)	5 (8)	2 (3)	2 (3)	5 (8)	5 (8)
Доноры	50	2 (4)	2 (4)	2 (4)	5 (10)	2 (4)	2 (4)	2 (4)	4 (8)

^{а)} С6_{B.b.s.s.} — пептид С6 из *B. burgdorferi sensu stricto*

^{б)} ИКБ, эритемная форма

Специфические IgM были выявлены примерно в 20 % проб группы «ИКБ» при взаимодействии с пептидными антигенами и в 10–14 % проб — с рекомбинантным белком VlsE (табл. 7.18). Эти результаты подтвердили известные сведения, что пептид С6 даже на ранних сроках заболевания ИКБ обнаруживает преимущественно G (Embers et al., 2007). Определение IgM не повышало чувствительность ФОСФАН, а учет суммарных IgM и IgG антител снижал специфичность, что отмечали и другие исследователи (Sillanpaa et al., 2007). Наиболее высокие показатели чувствительности и специфичности при определении IgM антител, в том числе на ранних сроках заболевания ИКБ, были достигнуты при включении в состав «пептидного» иммуночипа рекомбинантного белка OspC; при этом специфические антитела в ФОСФАН были выявлены примерно в 90 % проб, положительных по данным исследования проб в ПЦР (Помелова и др., 2013).

Применение ФОСФАН для одновременного выявления иммуноглобулинов G к возбудителям ИКБ и КЭ. Перспективы ФОСФАН для сероэпидемиологического мониторинга и подтверждающей серодиагностики природноочаговых заболеваний связаны с разработкой мультиплексных тестов, позволяющих определять спектр антител к нескольким возбудителям. С учетом этого был разработан флуоресцентный иммуночип для одновременного выявления G антител к вирусу КЭ и возбудителям ИКБ (Помелова и др., 2010в). Антиборрелиозные антитела достоверно чаще регистрировались в сыворотках больных ИКБ и пациентов, у которых это заболевание протекало в виде микст-инфекции с КЭ, чем в пробах, полученных от больных с моноинфекцией КЭ и здоровых людей (табл. 7.19). Противовирусные антитела были выявлены во всех исследованных группах, в том числе у доноров. Эти данные подтверждают специфичность взаимодействия исследованных сывороток с антигенами, включенными в состав иммуночипа, и согласуются с наблюдениями, свидетельствующими о наличии G к вирусу КЭ у значительного числа жителей эндемичных регионов (Иерусалимский, 2001 и др.).

Таблица 7.19. Результаты выявления IgG к возбудителям ИКБ и КЭ в тесте Лаймплекс 34/ВКЭ-ФОСФАН (жирным шрифтом выделены гомологичные реакции; по данным В.Г. Помеловой и др., 2010в)

Ожидаемая инфекция	Исследовано сывороток	Число (%) положительных проб с антигеном:			
		С6 V.garinii	С6 V.b.s.s.	recVlsE	ВКЭ
КЭ	9	1 (11,1)	1 (11,1)	1 (11,1)	7 (77,8)
ИКБ	59	39 (66,1)	39 (66,1)	39 (66,1)	36 (61,1)
Микст ИКБ + КЭ	32	25 (78,1)	27 (84,4)	25 (78,1)	30 (93,8)
Контроль (доноры)	90	1 (1,1)	1 (1,1)	1 (1,1)	30 (33,3)

7.5.5. Детекция специфических антител в пробах цельной крови (или сывороток крови), высушенных на бумаге

Фильтровальная бумага с пятнами высушенной крови, собранной в природном очаге от человека и животных, достаточно давно используется в эпидемиологических исследованиях в качестве источника биологического материала (Николаев, Ананьин, 1949). Очевидные достоинства этого подхода связаны с удобством взятия капиллярной крови, низкой стоимостью сбора, транспортировки и хранения проб, возможностью почтовой пересылки проб на бумаге в герметичных пластиковых пакетах, особенно из отдаленных регионов (Parker, Cubitt, 1999; Steinberg et al., 2002). При высушивании повышается стабильность многих аналитов, в том числе антител, РНК и ДНК (McCabe, 1991), а манипуляции с бумажными бланками более безопасны, чем с цельной кровью (Resnick et al., 1986).

К настоящему времени описано применение технологии сухого пятна крови для выявления антител к возбудителям вирусных (гепатит А и В, краснуха, корь, свинка, лихорадка Денге) и бактериальных (лептоспироз, лепра, столбняк, бруцеллез, сифилис, туляремия, аргасовый клещевой боррелиоз) инфекций, а также заболеваний, вызываемых простейшими (малярия, врожденный токсоплазмоз, лейшманиоз и др.) и филяриями (Коренберг и др., 1988; Крючечников и др., 1988; Parker, Cubitt, 1999). Прямое сопоставление чувствительности и специфичности серологического тестирования с использованием сухих пятен и сывороток крови продемонстрировало совпадение результатов в 99–100 % случаев (Hannon et al., 1989). Присутствие гема в элюатах из сухих пятен крови, также как хранение последних при повышенной температуре (например, в тропических условиях) не влияли на специфичность анализа (Evengard et al., 1989; Hannon et al., 1993).

Показана возможность использования сухих пятен цельной крови (или сывороток крови) для определения специфических IgM, IgG антител к возбудителям природноочаговых инфекций, таких как КЭ или ИКБ. Так, в ФОСФАН исследовано 395 сывороток крови от больных ИКБ, пациентов контрольной группы и доноров (Помелова и др., 2010в). Эти пробы были нанесены на фильтровальную бумагу фирмы Ватман № 903 в виде нескольких пятен диаметром примерно 1 см каждое (по 50 мкл сыворотки на пятно) и высушены на воздухе. Для исследования использовали выбитые панчером диски диаметром 3,2 мм, которые помещали непосредственно в лунку планшета (по 1 диску на лунку) и анализировали параллельно с исходными сыворотками. Чувствительность и специфичность выявления антиборрелиозных антител были сопоставимы (табл. 7.20) при наличии высокой степени корреляции ($r = 0,9088$, $p = 0,0000$; $y = 1,04 + 0,66 \cdot x$; $r^2 = 0,8259$) между результатами исследования жидких и высушенных на бумаге проб (рис. 7.7).

Таблица 7.20. Чувствительность и специфичность теста Лаймплекс 14-ФОСФАН при выявлении антиборрелиозных IgG в сыворотках, высушенных на фильтровальной бумаге (по данным В.Г. Помеловой и др., 2010в)

Группа пациентов	Исследовано сывороток	Число (%) положительных сывороток:	
		до высушивания	после высушивания
Больные ИКБ	144	107 (74,3) [67–81]	103 (71,5) [64–79]
Контрольная	177	11 (6,2)	11 (6,2)
Доноры	74	0 (0,0)	0 (0,0)

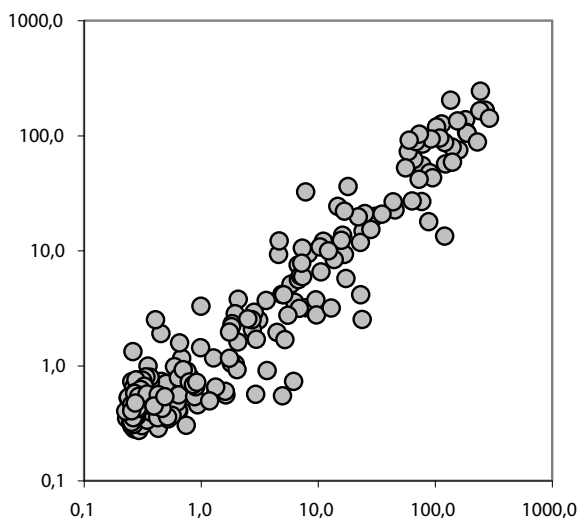


Рис. 7.7. Корреляция результатов ФОСФАН при выявлении антиборрелиозных IgG антител в сыворотках до и после высушивания на фильтровальной бумаге (по данным В.Г. Помеловой и др., 2010в).

Ось абсцисс: значения коэффициента позитивности при обследовании нативных сывороток, в Ig.

Ось ординат: значения коэффициента позитивности при обследовании тех же сывороток после высушивания, в Ig.

Высушенные на бумаге пятна цельной крови были успешно применены и для выявления IgM, IgG антител к вирусу КЭ (Помелова и др., 2008). В этих опытах параллельно исследованы пробы цельной крови и сывороток (n=562) от больных КЭ, пациентов контрольной группы и доноров. Капиллярную кровь из пальца раскапывали по 50 мкл на фильтровальную бумагу Ватман № 903, высушивали на воздухе и хранили до исследования в герметично запаянных пластиковых пакетах при 4°C. Сыворотки готовили обычным образом из венозной крови и хранили при -20°C. Чувствительность и специфичность определения IgM, IgG антител к вирусу КЭ при исследовании обоих видов биоматериала были сопоставимы (табл. 7.21).

Таблица 7.21. Результаты ЛИФА при выявлении IgM и IgG к вирусу КЭ в сыворотках и сухих пятнах крови больных КЭ, у пациентов контрольной группы и клинически здоровых доноров (данные В.Г. Помеловой и др., 2008)

Группа пациентов	Число проб с положительным результатом выявления антител	Выявлены IgM		Выявлены IgG	
		Сыворотка	Сухое пятно крови	Сыворотка	Сухое пятно крови
КЭ	Абс. %	158/196* 80,6 (75–87)	155/196 79,1 (75–87)	136/196 69,4 (63–77)	129/196 65,8 (59–73)
Контрольная	Абс. %	3/225 1,3 (0–3,2)	1/225 0,4 (0–1,6)	44/225 19,6 (14–28)	н.и.
Доноры	Абс. %	1/141 0,7 (0–2,7)	5/141 3,5 (0–7,2)	44/141 31,2 (22–40)	45/141 31,9 (22–40)

В числителе – число исследованных проб (сывороток или сухих пятен крови) с указанным результатом, в знаменателе – общее число исследованных проб; в скобках приведено значение 95% ДИ
н.и. – не исследовали.

Результаты определения специфических IgM совпали более чем в 95% проб, а между значениями интенсивности флуоресценции в ЛИФА наблюдалась высокая

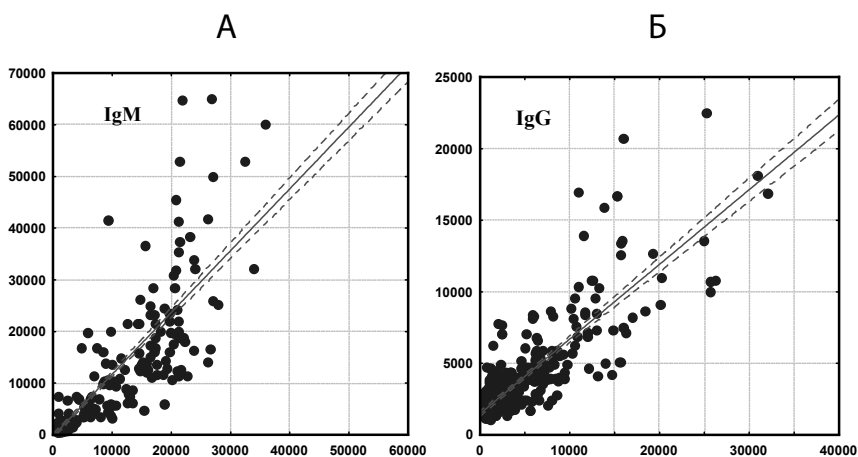


Рис. 7.8. Корреляция значений интенсивности флуоресценции (ИФ) при выявлении иммуноглобулинов IgM или IgG к вирусу КЭ в сыворотках и сухих пятнах капиллярной крови.
Ось абсцисс: ИФ сывороток при определении IgM (А) или IgG (Б) антител (имп/с).
Ось ординат: ИФ сухих пятен крови при определении IgM (А) или IgG (Б) антител (имп/с).

степень корреляции при определении как IgM ($y = -280,6 + 1,1966x$; $r = 0,86700$; $p = 0,05$; $n = 562$), так и IgG ($y = 1461 + 0,52x$; $r = 0,83883$; $p = 0,05$; $n = 337$) антител (рис. 7.8).

Использование проб крови на бумаге — это перспективный малоинвазивный подход к диагностическому тестированию. Сбор крови на бумажные бланки может выполнять в любом месте минимально обученный персонал. Для проведения исследований вполне достаточно обычного лабораторного оборудования (шейкеры, вошеры и т.п.), которое необходимо лишь дополнить ручными или автоматическими панчерами для «выбивания» дисков. Существующие диагностические подходы к исследованию сывороток, прежде всего иммуноферментные тесты, могут быть легко адаптированы для выявления антител в сухих пятнах крови. Применение проб крови на бумаге наиболее целесообразно при проведении масштабных скрининговых исследований в рамках сероэпидемиологического мониторинга и расшифровки вспышек заболеваний, контроле эффективности вакцинации, оценке уровня специфического иммунитета у жителей эндемичных регионов, контроле лечения. Такой подход может быть также использован при серологической диагностике острых заболеваний у госпитализированных людей, у которых взятие венозной крови затруднительно (дети, пожилые и длительно болеющие люди, наркоманы). Вместе с тем для внедрения технологии сухого пятна крови в практику лабораторной работы должны быть предприняты усилия по стандартизации процедуры сбора, транспортировки и хранения проб и разработке программ контроля качества измерений; кроме того, следует использовать бумагу, сертифицированную для сбора цельной крови (Hannon et al., 1989).

7.6. Литература

- Азарян А. Р., Гришанова А. П., Бутенко А. М. и др. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М., 2007. С. 115.
- Алексеев А. Н. // Кровососущие членистоногие в паразитарной системе. Механизмы защиты и агрессии переносчиков возбудителей болезней. СПб., 2008. 55 с.
- Алыпова И. И., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2002. № 2. С. 21.
- Ананьева Л. П. Боррелиоз Лайма и его ревматические проявления. Автореф. дисс. ...докт. мед. наук. М., 1999.
- Ананьина Ю. В., Самсонова А. П. // Вестник РАМН. 2000. № 1. С. 18.
- Афанасьева М. В. Клинико-эпидемиологическая характеристика гранулоцитарного анаплазмоза человека в России (на примере Пермского края). Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. М., 2006.
- Афанасьева М. В., Коренберг Э. И., Фризен В. И. и др. // Эпидемиол. и вакцинопроф. 2005. № 1. С. 45.
- Балаиов Ю. С. // Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. Наука. СПб., 2009. 357 с.
- Бахвалова, В.Н., Морозова О. В., Добротворский А. К. и др. // Паразитология. 2001. № 5. С. 376.
- Бахвалова, В.Н., Морозова О. В., Матвеева В. А. и др. // Паразитология. 2003. № 1. С. 18.
- Баширкицев В. Н., Иванов А. П., Деконенко Е. П. и др. // Вопросы вирусологии. 1986. № 1. С. 96.
- Беликов С. И., Леонова Г. Н., Кондратов И. Г. и др. // Бюлл. СО РАМН. 2007. Т. 4. № 126. С. 22.
- Беликов С. И., Леонова Г. Н., Кондратов И. Г. и др. // Генетика. 2010а. Т. 46. № 3. С. 356.
- Беликов С. И., Леонова Г. Н., Кондратов И. Г. и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. 2010б. № 3. С. 23.
- Биологический энциклопедический словарь. / Советская энциклопедия. М., 1986. 831 с.
- Бутенко А. М., Ларичев В. Ф. // Материалы 9 съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2007. Т. 3. С. 159.
- Быченкова Т. А., Тютерева А. Л., Короткова Н. С. и др. // Инфекционные болезни. 2013. Т. 11. Приложение 1. С. 79.
- Васерин Ю. И., Ленский С. В. // Арбовирусы. Сборник тезисов докладов пленума всесоюзной проблемной комиссии под ред. Гайдамович С. Я. и Приймаги Л. С. Таллин. 1984. С. 64.
- Верхозина М. М., Злобин В. И., Демина Т. В. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007. С. 23.
- Волкова Т. Д., Вольпина О. М., Иванов В. Т. и др. // Биоорган. Химия. 1998. Т. 24. № 2. С. 100.
- Воробьева М. С., Воронцова Т. В., Арумова Е. А., Расцепкина М. Н. // Здоровье населения и среда обитания. 2001. № 1. Т. 94. С. 12.
- Воробьева М. С., Расцепкина М. Н., Ладыженская И. П. // Вопр. вирусол. 2007. Т. 52. № 6. С. 30.
- Воробьева Н. Н. Клиника, лечение, и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов. // Урал-Пресс. Пермь, 1998. 136 с.
- Воронина О. Л., Гинцбург А. Л. // 150 лет со дня рождения Николая Федоровича Гамалеи. «Дизайн-студия А4». М., 2009. С. 62.
- Вотяков В. И., Злобин В. И., Мишаева Н. П. // Клещевые энцефалиты Евразии. Вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции. Наука. Новосибирск, 2002. 37 с.
- Гайдамович С. Я. // Общая вирусология. Руководство. М., 1982. Т. 1. С. 437.
- Гамова Е. Г., Карань Л. С., Левина Л. С. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007. С. 28.

- Генетическая инженерия: Учеб.-справ. пособие. 2-е изд., испр. и доп. Новосибирск. Сиб. унив. изд-во, 2004. 496 с. (С. 48–55).*
- ГОСТ Р 53022.3–2008. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. Стандартиформ. М., 2009.*
- ГОСТ Р 53079.4–2008. Правила ведения преаналитического этапа. Стандартиформ. М., 2009.*
- ГОСТ Р 53133.2–2008. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов. Стандартиформ. М., 2009.*
- Грачева И. В., Караваева Т. Б., Меркулова Т. К., Плотников О. П. // Проблемы ООИ. 2009. Т. 99. С. 42.*
- Гришечкин А. Е., Морозова О. В., Конькова-Ройдман А. Б., Злобин В. И. // Ж. инфекц. патол. 2010. Т. 176. № 3. С. 49.*
- Грядунов Д. А., Зименков Д. В., Михайлович В. М. и др. // Лаборатория. 2009. Т. 3. № 11. С. 10.*
- Деконенко А. Е., Ткаченко Е. А. // Вопросы вирусологии. 2004. № 3. С. 40.*
- Демина Т. В., Джиоев Ю. П., Верховина М. М. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007а. С. 34.*
- Демина Т. В., Джиоев Ю. П., Верховина М. М. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007б. С. 37.*
- Дубинин Н. П. // История трагедии советской генетики. Наука. М., 1992. 375 с.*
- Жукова Н. Г. // Клещевой энцефалит (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение, профилактика). Томск, 1999.*
- Журавлев В. И., Гаранина С. Б., Кабин В. В. и др. // Вопросы вирусологии. 2008. № 2. С. 37.*
- Злобин В. И., Горин Л. З. // Клещевой энцефалит. Этиология. Эпидемиология и профилактика в Сибири. Новосибирск, 1996. 177 с.*
- Иерусалимский А. П. // Клещевой энцефалит. Новосибирск, 2001. 360 с.*
- Караванов А. С., Пиванова Г. П., Бычкова М. В. и др. // Вопросы вирусологии. 1988. № 5. С. 633.*
- Караванов А. С., Щипакин В. Н., Пиванова Г. П. и др. // Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 69.*
- Карань Л. С., Колясникова Н. М., Топоркова М. Г. и др. // ЖМЭИ. 2010. № 3. С. 72.*
- Карань Л. С., Маленко Г. В., Бочкова Н. Г. и др. // Бюлл. СО РАМН. Новосибирск, 2007. Т. 4. № 126. С. 34.*
- Карань Л. С., Шопенская Т. А., Колясникова Н. М. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007а. С. 54.*
- Карпов С. П., Селезнева А. А., Нестеров В. С. и др. // Актуальные вопросы вирусных инфекций. М., 1965. С. 118.*
- Кветкова Э. А. Серологические реакции у больных клещевым энцефалитом, привитых против этой инфекции. // Клещевой энцефалит. Омск, 1965. С. 61.*
- Кветкова Э. Л. Вирусологические и иммунологические аспекты патогенеза клещевого энцефалита. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Омск, 1984. 36с.*
- Кветкова Э. Л. Иммуногенез и морфогенез инфекционного и вакцинального процессов при клещевом энцефалите. // Пособие для врачей. Омск, 2004. 38с.*
- Кириллов М. Ю., Марков А. П., Лопырев И. В. // Мол. ген., микробиол. вирусол. 2007. № 1. С. 8.*
- Козлова И. В., Верховина М. М., Демина Т. В. и др. // Сиб. мед. журнал. 2012. № 4. С. 81.*
- Козлова И. В., Злобин В. И., Верховина М. М. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007а. С. 57.*
- Козлова И. В., Злобин В. И., Верховина М. М. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007б. С. 58.*
- Кондратьева Я. Ю. Особенности экспериментальной инфекции, вызванной вариантами вируса клещевого энцефалита с высокой и низкой нейтроинвазивностью. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2005.*
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 1996. Т. 116. № 3. С. 389.*
- Коренберг Э. И. // Мед. паразитол. 1999. № 4. С. 10.*
- Коренберг Э. И. // Вестник РАМН. 2001. № 11. С. 41.*
- Коренберг Э. И. Иксодовые клещевые боррелиозы // В кн. Г. Г. Онищенко, В. И. Покровский, Б. Л. Черкасский. Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. Медицина. М., 2003. С. 376.*

- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2005. Т. 125. № 2. С. 131.
- Коренберг Э. И. // Природа. 2006. № 10. С. 33.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 2010. Т. 89. № 1. С. 5.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2012. Т. 132. № 5. 2012. С. 448.
- Коренберг Э. И., Муртазаев Д. М., Щербаков С. В. и др. // Мед. паразитол. 1988. № 4. С. 80.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В. // Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Бином. М., 2010. С. 844.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Горелова Н. Б. и др. // Вестник РАМН. 2011. № 11. С. 10.
- Коренберг Э. И., Нефедова В. В., Фадеева И. А., Горелова Н. Б. // Бюлл. Сиб. мед. 2006. Приложение 1. С. 87–92.
- Коренберг Э. И., Николенко В. В., Воробьева Н. Н. и др. // Мед. паразитол. 2000. № 3. С. 9.
- Кравцов Ю. В., Ряпис Л. А. // ЖМЭИ. 1991. № 11. С. 63.
- Крючечников В. Н., Амридинов К. Н., Щербаков С. В. // Мед. паразитол. 1988. № 4. С. 86.
- Лаврова Н. А., Наволокин О. В. // Арбовирусы. Сборник научных трудов Института вирусологии им. Д. И. Иванковского АМН СССР. М., 1986. С. 146.
- Ларичев В. Ф., Бутенко А. М., Румо Ф. В., Трофименко Ю. В. // Молекулярная диагностика-2007. Сб. трудов 6-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. М., 2007. Т. 2. С. 326.
- Лашкевич В. А., Карганова Г. Г. // Вопросы вирусологии. 2007. № 5. С. 31.
- Лашкевич В. А., Королева Г. А., Лукашев А. Н. // ЖМЭИ. 2002. № 6. С. 117.
- Левкович Е. Н., Погодина В. В., Засухина Г. Д., Карпович Л. Г. // Вирусы комплекса клещевого энцефалита. Медицина. Л., 1967. 245 с.
- Леннет Э., Шмидт Н. // Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний. Пер. с англ. М., 1974. 775 с.
- Леонова Г. Н. // Клещевой энцефалит в Приморском крае. Дальнаука. Владивосток, 1997. 187 с.
- Леонова Г. Н., Борисевич В. Г. // Тихоокеанский мед. журн. 2001. № 2. С. 36.
- Леонова Г. Н., Борисевич В. Г. // Патент РФ № 2205652 от 10 июня 2003 г. (приоритет от 18 октября 2001 г.).
- Леонова Г. Н., Борисевич В. Г., Гагач Г. Ф. и др. // Патент РФ № 2217758 от 27.11.2003 г. (приоритет от 2001 г.).
- Леонова Г. Н., Крылова Н. В. // Патент РФ № 2439566 от 10.01.2012 (приоритет от 20.09.2010).
- Леонова Г. Н., Майстровская О. С. // Вопросы вирусологии. 1996. № 5. С. 224.
- Леонова Г. Н., Майстровская О. С., Борисевич В. Г. // Вопросы вирусологии. 1996. № 6. С. 260.
- Леонова Г. Н., Павленко Е. В. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007. С. 75.
- Лепехин А. В., Саратиков А. С., Портнягина Е. В., Яворовская В. Е. // Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. Омск, 1998. С. 55.
- Ливанова Н. Н., Фоменко Н. В., Ливанов С. Г. // Вестник Урал. Гос. Мед. акад. 2010. Т. 21. С. 110.
- Львов Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С. Я. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Медицина. М., 1989. 336 с.
- Мансуров П. Г., Наволокин О. В., Пеньевская Н. А., Пиценко Н. А. // Экология вирусов и диагностика арбовирусных инфекций. М., 1989. С. 207.
- Маркелов М. Л., Манзенюк И. Н., Капотова Е. Ю. и др. // Int. Conf. «Basic science for biotechnology and medicine». September 3–7, 2006. Novosibirsk, Russia. P. 45.
- Марков А. П., Лопырев И. В., Ирхин А. И. и др. // Мол. ген., микробиол., вирусол. 2006. № 4. С. 8.
- Матвеева В. А. Иммуногенные свойства гликопротеина NS1 и других белков вируса клещевого энцефалита. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2000.
- Матвеева В. А., Бугрышева Ю. В., Бахвалова В. Н., Морозова О. В. // Вопросы вирусологии. 1997. Т. 51. № 3. С. 179.
- Материалы X съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2, № 1–2. 576 с.
- Медянкин О. Ю., Иванов Л. И., Nishikawa M. и др. // ЖМЭИ. 2004. № 1. С. 7.
- Меньшиков В. В. // Стандартизация в клинической лабораторной медицине. Организационные и метрологические аспекты. Лабора. М., 2005. 251с.

- Меньшиков В. В. // Зачем клинической лаборатории нужна стандартизация и как ее применить на практике? Учебно-методическое пособие. Лабора. М., 2012. 71 с.
- Молекулярная клиническая диагностика. Методы: пер. с англ./ Под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. Мир. М., 1999. 558 с. (С. 395–402).
- Морозова О. А., Петрожицкая Л. В., Мирзаева А. Г. и др. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Новосибирск, 2011. С. 321.
- Москвитина Н. С., Романенко В. Н., Терновой В. А. и др. // Паразитология. 2008. Т. 42. № 3. С. 210.
- Мошкин А. В., Долгов В. В. // Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике. Практическое руководство. Медиздат. М., 2004. 216 с.
- МУ, 1990: Методические указания по эпидемиологии и профилактике клещевого энцефалита. Приложение № 3 к Приказу МЗ СССР от 9 апреля 1990 г. № 141 «О дальнейшем совершенствовании мероприятий по профилактике клещевого энцефалита».
- МУ, 1991: Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма. МЗ СССР. / Под рук. и общей ред. Э. И. Коренберга и В. А. Насоновой. М., 1991.
- Мухачева Т. А., Ковалев С. Ю. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 105.
- Наволокин О. В., Пеньевская Н. А., Мансуров П. Г., Матюхина Л. В. // Экология вирусов и диагностика арбовирусных инфекций. М., 1989. С. 201.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Андрейчук Ю. В. и др. // Ж. микробиол. 2005а. № 4. С. 23.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н. и др. // Ж. микробиол. 2009. № 1. С. 63.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. и др. // Мол. ген. микробиол. и вирусол. 2010. № 3. С. 7.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. и др. // Вестник РАМН. 2008. № 7. С. 47.
- Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Фадеева И. А., Горелова Н. Б. и др. // Мед. паразитол. 2005б. № 2. С. 9.
- Николаев И. И., Ананьин В. В. // Врачебное дело. 1949. № 8. С. 751.
- Николенко В. В., Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Роггенбук В. // Мед. паразитол. паразитар. болезни. 2001. № 2. С. 17.
- Обрядина А. П., Загрядская Ю. Е., Савельева Н. В. и др. // Вопросы вирусологии. 2008. № 1. С. 36.
- Осин Н. С. // Патент 2379691 РФ. Бюлл. изобрет. 2010. № 2.
- Осин Н. С., Лепешкина Н. В., Папковский Д. Б. и др. // Патент 15610426 РФ. Бюлл. изобрет. 1990. № 16.
- Осин Н. С., Миронов А. Ф., Румянцева В. Д. и др. // Патент 2066455 РФ. Бюлл. изобрет. 1996. № 25.
- Осин Н. С., Петухов В. Г., Иткин З. Б. // Патент 1347708 РФ (приоритет от 17.09.85).
- Осин Н. С., Помелова В. Г. // Современные методы индикации патогенов и токсинов в объектах окружающей среды и диагностики социально-значимых инфекционных заболеваний для обеспечения химической и биологической безопасности. М., 2010. Гл. 6. С. 171–200.
- Осин Н. С., Помелова В. Г., Быченкова Т. А. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М., 2007а. С. 79.
- Осин Н. С., Помелова В. Г., Быченкова Т. А. и др. // Патент 2184970 РФ. Бюлл. изобрет. 2002. № 19.
- Осин Н. С., Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Соколов А. С. // Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных заболеваний. Материалы 4-й Межгосударственной научно-практической конференции стран СНГ. Саратов, 2003. С. 138.
- Осин Н. С., Помелова В. Г., Соколов А. С. и др. // Вестник РАМН. 2007б. № 12. С. 3.
- Осин Н. С., Румянцева В. Д., Прошина Е. Ю. и др. // Патент 1707539 РФ. Бюлл. изобрет. 1992. № 3.
- Осин Н. С., Соколов А. С. // Патент 2197732 РФ. Бюлл. изобрет. 2003. № 3.
- Павловский Е. Н. // Зоол. журн. 1947. Т. 26. Вып. 4. С. 297.
- Павловский Е. Н. // Природная очаговость трансмиссивных болезней. Наука. М., 1964. 211 с.
- Пеньевская Н. А. // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2008. № 10 (1). С. 70.
- Петухов В. Г., Осин Н. С. // Прикл. биохимия и микробиол. 1980. № 16. С. 284.
- Петухов В. Г., Шувалова В. А., Шувалова И. А. // Биофизика. 1970. № 15. С. 438.
- Пиликова О. М., Юничева Ю. В., Ларичев В. Ф. // Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М., 2007. С. 152.
- Платонов А. Е., Малеев В. В., Карань Л. С. // Тер. архив. 2010. № 11. С. 74.
- Погодина В. В., Бочкова Н. Г., Дживанян Т. и др. // Вопросы вирусологии. 1992. № 37 (2). С. 103.
- Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. и др. // Вопросы вирусологии. 2012. № 57 (3). С. 30.

- Погодина В. В., Ларина Г. И., Фролова М. П. // Арбовирусы. Сборник тезисов докладов пленума всесоюзной проблемной комиссии под редакцией Гайдамович С. Я. и Приймаги Л. С. Таллин, 1984. С.65.
- Погодина В. В., Фролова М. П., Ерман Б. А. / Хронический клещевой энцефалит. Наука. Новосибирск, 1986. 234 с.
- Подоплека Л. Е., Тарасенко В. И., Орлова Е. В. и др. // Мед. паразитол. 2005. № 1. С. 3.
- Помелова В. Г., Бекман Н. И., Быченкова Т. А. и др. // Мед. паразитол. 2006. № 3. С. 9.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Бекман Н. И. и др. // Мед. паразитол. 2006а. № 2. С. 13.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Бекман Н. И. и др. // Журн. микробиол. 2008. № 1. С. 50.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Бекман Н. И. и др. // Журн. микробиол. 2009а. № 3. С. 71.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Бекман Н. И., Осин Н. С. // Журн. микробиол. 2010а. № 1. С. 62.
- Помелова Т. А., Быченкова Т. А., Канаева Т. А. и др. // Инфекц. болезни. 2013. № 11 (1). С. 322.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Козлова Е. Г., Фризен В. И. // Мед. паразитол. 2005. № 4. С. 46.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Ларичева С. Ю. и др. // Вопросы вирусологии. 2010б. № 2 (55). С. 14.
- Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Осин Н. С. // Проблемы ООИ. 2009в. № 3 (101). С. 54.
- Помелова В. Г., Коренберг Э. И., Осин Н. С. и др. // Эпидемиол. вакцинопроф. 2010в. № 1 (50). С. 22.
- Помелова В. Г., Осин Н. С. // Вестник РАМН. 2007. № 12. С. 10.
- Помелова В. Г., Осин Н. С., Быченкова Т. А. и др. // Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных заболеваний. Материалы 4-й Межгосударственной научно-практической конференции стран СНГ. Саратов, 2003. С. 146.
- Помелова В. Г., Осин Н. С., Коренберг Э. И. и др. // Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 70-летию теории академика Е. Н. Павловского о природной очаговости болезней: Актуальные проблемы природной очаговости болезней. ООО «Издательский центр «Омский научный вестник». Омск, 2009б. С. 61.
- Пособие по клинической биохимии. /Под ред. Л. В. Акуленко. 2007. 256 с.
- Рар В. А., Епихина Т. И., Ливанова Н. Н. и др. // Мол. генетика, микробиол., вирусол. 2011. № 2. С. 17.
- Рар В. А., Ливанова Н. Н., Панов В. В. и др. // Бюлл. Сиб. Мед. 2006.
- Рар В. А., Ливанова Н. Н., Пуховская Н. М. и др. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Новосибирск, 2011а. С. 309.
- Распопин В. В., Топычканова Н. Г., Жуков В. А. и др. // Новости «Вектор-Бест». 2006. № 2 (40). С. 4.
- Романова Е. В. / Сравнительный геномный анализ штаммов вируса клещевого энцефалита, обладающих разной вирулентностью. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Новосибирск, 2011. 17 с.
- Рубина А., Паньков С., Иванов С. и др. // Белковые микрочипы. ДАН. 2001. № 5. С. 419.
- Рудакова С. А. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Новосибирск, 2011. С. 214.
- Ряпис Л. А., Беляков В. Д. // ЖМЭИ. 1997. № 5. С. 110.
- Саватеева Е. Н., Деменьтьева Е. И., Цыбульская М. В. и др. // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. 2009. № 6. С. 679.
- Савицкий А. П., Папковский Д. Ю., Понамарев Г. И., Березин И. В. // ДАН. 1989. № 334. С. 1005.
- Соколов А. С., Осин Н. С., Михайлов В. А. и др. // Патент 2190208 РФ. Бюлл. изобрет. 2002. № 27.
- Соколова З. И., Бейкин Я. Б., Лесняк О. М. и др. // Клин. лаб. диагн. 1999. № 3. С. 34.
- СП 3.1.3.2352-08. Санитарно-эпидемиологические правила. «Профилактика клещевого вирусного энцефалита» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 7 марта 2008 г. № 19).
- Старостина О. Ю., Березкина Г. В., Малькова М. Г. и др. // Национальные приоритеты России. 2009. Спец. выпуск № 2. С. 112.
- Субботин А. В., Семенов В. А., Этенко Д. А. // Архив внутр. медицины. 2012. № 2. www.medarhive.ru.
- Субботина Л. С., Наволокин О. В., Мансуров П. Г. и др. / Методич. рекомендации ГСЭУ МЗ СССР. Вирусологическое исследование отдельных экземпляров иксодовых клещей с использованием методов микроанализа. М., 1986. 16 с.
- Тарасенко В. И., Орлова Е. В. // Сборник статей по материалам 5-го конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке». Под ред. Л. М. Огородовой и Л. В. Капилевича. СибГМУ. Томск, 2004.
- Тетерин В. Ю. / Оптимизация лабораторной диагностики и клинические особенности иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза человека. Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. М., 2012. 23 с.

- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Эпидемиол. вакцинопроф. 2010. № 5. С. 35.
- Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // Ж. инфектол. 2012. № 2. С. 33.
- Травина Н. С., Скрынник С. М., Карань Л. С. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С. 76.
- Трухина А. Г., Андаев Е. И., Борисова Т. И. и др. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007. С. 125.
- Удинцева И. Н. Клинико-иммунологические проявления лихорадочной и стертой форм клещевого энцефалита в различные периоды заболевания. Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. Иркутск, 2010. 22 с.
- Фадеева И. А., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. и др. // ЖМЭИ. 2006. № 3. С. 27.
- Фадеева И. А., Нефедова В. В., Коренберг Э. И., Горелова Н. Б. // Мол. генетика, микробиол. вирусол. 2005. № 3. С. 18.
- Флэтчер Р., Флэтчер С., Вагнер Э. / Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. Пер. с англ. Медиа Сфера. М., 1998. 352 с.
- Фоменко Н. В. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Новосибирск, 2011. С. 197.
- Фоменко Н. В., Боргояков В. Ю., Панов В. В. // Мол. ген., микробиол., вирусол. 2011. № 2. С. 12.
- Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н., Боргояков В. Ю. и др. // Паразитология. 2010. Т. 44. № 1. С. 28.
- Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н., Боргояков В. Ю. и др. // Паразитология. 2010а. Т. 44. № 3. С. 201.
- Фоменко Н. В., Романова Е. В., Караваева Ю. Ю. и др. // Бюлл. Сиб. мед. 2006. Приложение 1. С. 93.
- Фоменко Н. В., Стронин О. В., Хаснатинов М. А. и др. // Мол. ген., микробиол., вирусол. 2009. № 4. С. 18.
- Фризен В. И., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. и др. // Эпидемиол. вакцинопроф. 2004. С. 27.
- Фризен В. И., Коренберг Э. И., Афанасьева М. В. и др. // Инфек. болезни. 2005. № 3 (4). С. 39.
- Черницына Л. О., Караванов А. С. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита (к 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита). М., 2007. С. 136.
- Черницына Л. О., Караванов А. С. // Вопросы вирусологии. 2008. № 53 (4). С. 27.
- Шаповал А. Н. // Клещевой энцефаломиелит. Медицина. Л., 1980. 253 с.
- Шаркова В. А., Гордеев А. В., Черникова А. А. // Патент РФ 2433404 от 10.11.2011 (приоритет от 07.06.2010).
- Шкарин В. В., Ковалишина О. В., Благоднравова А. С. // ЖМЭИ. 2010. № 3. С. 119.
- Экспресс-тест на энцефалит. // Interfax-Russia.ru. Сибирский федеральный округ. 2013.
- Эндрюс К. // Естественная история вирусов. Мир. М., 1969. 312 с.
- Эпидемиологический словарь. / Под ред. Дж. Ластва. 4 издание. М., 2009. 316 с.
- Якушева С. С. Иммунодиагностические особенности инфекции клещевых инфекций в Приморском крае (клещевой энцефалит, иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой риккетсиоз). Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. 2003.
- Ярков С. П., Скопинская С. Н., Шиленко И. В., Злобин В. Н. // Вестник РАМН. 2009. № 3. С. 20.
- Aberer E., Brunner G., Suchanek H. et al. // Ann. Neurol. 1989. Vol. 26. P. 732.
- Aberer E., Schwantzer G. // ISRN Immunology. 2012. ID 719821. 4 p.
- Achazi K., Nitsche A., Patel P. et al. // J. Virol. Methods. 2011. Vol. 171. No. 1. P. 34.
- Aguero-Rosenfeld M. E. // In: H. D. Isenberg (ed.). Clinical microbiology procedures handbook. 2nd ed. ASM Press. Washington D. C. 2004. P. 11.6.1.
- Aguero-Rosenfeld M. // In: IOM (Institute of Medicine). Critical needs and gaps in understanding prevention, amelioration, and resolution of Lyme and other tick-borne diseases: The short-term and long-term outcomes: Workshop report. Washington, D.C.: The National Academies Press. 2011. P. 126.
- Aguero-Rosenfeld M.E., Nowakowski J., Bittker S. et al. // J. Clin. Microbiol. 1996. Vol. 34. 1. P. 1.
- Aguero-Rosenfeld M.E., Nowakowski J., McKenna D.F. et al. // J. Clin. Microbiol. 1993. Vol. 31. P. 3090.
- Aguero-Rosenfeld M., Wang G., Schwartz I., Wormser G. P. // Clin Microbiol ReVol. 2005. Vol. 18. No. 3. P. 484.
- Akin E., McHugh G. L., Flavell R. A. et al. // Infect. Immun. 1999. Vol. 67. P. 173.
- Anderson B. E., Dawson J. E., Jones D. C., Wilson K. H. // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29. P. 2838.
- Anderson B. E., Sumner J. W., Dawson J. E. et al. // J. Clin. Microbiol. 1992. Vol. 30. P. 775.
- Anderson G. P., King K. D., Gaffney K. L., Johnson L. H. // Biosensors and bioelectronics. 2000. Vol. 14. No. 10–11. P. 771.
- Ang C. W., Notermans D. W., Hommes M. et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2011. Vol. 30. No. 8. P. 1035.
- Arenkov P., Kukhtin A., Gemmell A. et al. // Anal. Biochem. 2000. Vol. 278. P. 123.
- Artsob H., Garvie M. // Can. J. Infect. Dis. 1991. Vol. 2. No. 1. P. 41.
- Asanov A., Zepeda A., Vaca L. // Sensors. 2012. Vol. 12. No. 2. P. 1800.

- Asanovich K. M., Bakken J. S., Madigan J. E. et al. // J. Infect. Dis. 1997. Vol. 176. P. 1029.
- Åsbrink E.; Hovmark A.; Hederstedt B. // Acta Derm.Venerol. 1985. Vol. 65. P. 509.
- Bacarese-Hamilton T., Mezzasoma L., Ardizzoni A. et al. // J. Appl. Microbiol. 2004. Vol. 96. P. 10.
- Bacon R. M., Biggerstaff B. J., Schriefer M. E. et al. // J. Infect. Dis. 2003. Vol. 187. P. 1187.
- Bakhvalova V. N., Potapova O. F., Panov V. V., Morozova O. V. // Virus Research. 2009. Vol. 140. P. 172.
- Bakken L. L., Callister S. M., Wand P. J., Schell R. F. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 537.
- Baranton G., Seinost G., Theodore G. et al. // Res. Microbiol. 2001. Vol. 152. P. 149.
- Baranton G., Postic D. // Molecular Biology of Spirochetes. IOS Press. Amsterdam. 2006. P. 135.
- Barbet A. F. // Vet. Parasitol. 1995. Vol. 57. P. 43.
- Barbour A. G. // The Pathogenesis of Bacterial Infections. Spriger-Verlag. Berlin, Hidelberg. 1985. P. 235.
- Barbour A. G., Jasinskas A., Kayala M. A. et al. // Infection and Immunity. 2008. Vol. 76. No. 8. P. 3374.
- Barclay S. S., Melia M. T., Auwaerter P. G. // Clin. Vaccine Immunol. 2012. Sep 12. [Epub ahead of print].
- Bastarache J. A., Koyama T., Wickersham N. L. // J. Immunol. Meth. 2011. Vol. 367. No. 1–2. P.:33.
- Beasley D. W.C., Holbrook M. R., Travassos D. A., et al. // J. Clin. Microbiol. 2004. Vol. 42. No. 6. P. 2759.
- Bell C. A., Patel R. // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2005. Vol. 53. P. 301.
- Berardi V.P., Weeks K. E., Steere A. C. // J. Infect. Dis. 1988. Vol. 158. P. 754.
- Bernard P.S., Lay M. J., Wittwer C. T. // Anal. Biochem. 1998. Vol. 255. No. 1. P. 101.
- Branda J. A., Aguero-Rosenfeld M.E., Ferraro M. J. et al. // Clin. Infect. Dis. 2010. Vol. 50. P. 20.
- Branda J. A., Linskey K., Kim Y. A. et al. // Clin. Infect. Dis. 2011. Vol. 53. No. 6. P. 541.
- Branda J. A., Strle F., Strle K. et al. // Clin. Infect. Dis. 2013. (Epub ahead of print).
- Brouqui P, Bacellar F, Baranton G. et al. // Clin. Microbiol. Infect. 2004. Vol. 10. P. 1108.
- Brouqui P, Dumler J. S., Raoult D., Walker D. H. // J. Clin. Microbiol. 1992. Vol. 30. P. 1062.
- Brouqui P, Salvo E., Dumler J. S., Raoult D. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2001. Vol. 8. No. 1. P. 199.
- Brown S. L., Hansen S. L., Langone J. J. et al. // FDA Med. Bull. 1999.
- Bruckbauer H. R., Preac-Mursic V., Fuchs R., Wilske B.. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1992. Vol. 11. P. 224.
- Brunner M., Sigal L. H. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39. P. 3213.
- Bryksin A. V., Godfrey H. P., Carbonaro C. A. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2005. Vol. 12. No. 8. P. 935.
- Bunikis J., Luke C. J., Bunikine E. et al. // J. Bacteriol. 1998. Vol. 180. No. 7. P. 1618.
- Bunikis J., Noppa L., Ostborg Y. et al. // Infection and Immunity. 1996. Vol. 64. No. 12. P. 5111.
- Bunikis J., Tsao J., Garpmo U. et al. // EID. 2004. No. 9. P. 1661.
- Burbelo P.D., Issa A. T., Ching K. H. et al. // Clin. Vaccine Immunol. 2010. Vol. 17. No. 6. P. 904.
- Bush U., Hiso-Teufel C., Boehmer R. et al. // J. Clin. Microbiol. 1996. Vol. 34. No. 5. P. 1072.
- Callister S. M., Schell R. F., Case K. L. et al. // J. Infect. Dis. 1993. Vol. 167. P. 158.
- Cameron D. J. // Proceedings of the 12th Annual Int. Sci. Conf. on Lyme disease and other spirochetal and tick-borne disorders. 1999.
- Cao W. C., Zhao Q. M., Zhang P. H. et al. // Am. J. Trop. Med. Hyg. 2003. Vol. 68. P. 547.
- Casjens S. et al. // Mol. Microbiol. 2000. Vol. 35. P. 490.
- Caspersen K., Park J. H., Patil S., Dumler J. S. // Infect. Immun. 2002. Vol. 70. P. 1230.
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention. // MMWR. 1995. Vol. 44. P. 590.
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention. // MMWR. 1997. Vol. 46. P. 1.
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention. // MMWR. 2005. Vol. 54. P. 125.
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention. //MMWR. 2006. Vol. 55 (RP-4). 36p.
- Cerar T., Ogrinc K., Cimperman J. et al. // J. Clin. Microbiol. 2008. Vol. 46. No. 10. P. 3375.
- Cerar T., Ogrinc K., Strke F., Ruzic-Sabljić E. // Clin. Vaccine Immunol. 2010. Vol. 17. No. 4. P. 645.
- Cerar T., Ruzic-Sabljić E., Cimperman J., Strle F. // Wien Klin. Wochenschr. 2006. Vol. 118. No. 21–22. P. 686.
- Cetin E., Sotoudeh M., Auer H., Stanek G. // Wien Klin. Wochenschr. 2006. Vol. 118. P. 677.
- Chandra A., Latov N., Wormser G. P. et al. // Clin. Immunol. 2011a. Vol. 141. No. 1. P. 103.
- Chandra A., Wormser G. P., Marques A. R. et al. // Clin. Vaccine Immunol. 2011b. Vol. 18. No. 5. P. 767.
- Chavez J. H., Silva J. R., Amarilla A. A., Moraes Figueiredo L. T. // Biologicals. 2010. Vol. 38. No. 6. P. 613.
- Chen S. M., Cullman L. C., Walker D. H. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1997. Vol. 4. P. 731.

- Chen Y. P., Qiao Y. Y., Zhao X. H. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14. No. 6. P. 720.
- Childs J. E., Sumner J. W., Nicholson W. L. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. No. 9. P. 2997.
- Chmielewska-Badora J., Cisak E., Wojcik-Fatla A. et al. // *Ann. Agric. Environ. Met.* 2006. Vol. 13. No. 2. P. 307.
- Chmielewski T., Fielt J., Gniadkowski M., Tylewska-Wierzbanska S. // *Mol. Diagn.* 2003. Vol. 7. No. 3–4. P. 155.
- Christova I. // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2003. Vol. 16. No. 3. P. 261.
- Cinco M., Ruscio M., Rapagna F. // *FEMS Microbiol. Lett.* 2000. Vol. 183. P. 111.
- Clarke D. H. // *Bull. WHO.* 1964. Vol. 31.
- Coipan E. C., Fonville M., Tijssse-Klassen E. et al. // *Infect. Genet. Evol.* 2013. Vol. 17C. P. 216.
- Coleman J. L., Benach J. L. // *J. Infect. Dis.* 1987. Vol. 155. P. 756.
- Coleman A. S., Pal U. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. Vol. 16. No. 11. P. 1569.
- Coleman A. S., Rossmann E., Yang X. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2011. Vol. 18. No. 3. P. 406.
- Colwell R. // *J. Bacteriol.* 1970. Vol. 104. P. 410.
- Comer J. A., Nicholson W. L., Sumner J. W. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 31.
- Cooper D. E., Multi N., Wright W., Yao M. // In: *Proc. Conf. DARPA. Biological agent detection and identification*, Santa Fe, NM, Apr. 27–30, 1999. P. 76.
- Coulter P., Lema C., Flayhart D. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 5080.
- Courtney J. W., Kostelnik L. M., Zeidner N. S., Massung R. F. // *J. Clin. Microbiol.* 2004. Vol. 42. P. 3164.
- Craft G. E., Fischer D. K., Shimamoto G. T., Steere A. C. // *J. Clin. Invest.* 1986. Vol. 78. P. 934.
- Craven R. B., Quan T. J., Bailey R. E. et al. // *Emerg. Infect. Dis.* 1996. Vol. 2. No. 2. P. 136.
- Cutler S. J., Bonilla E. M., Singh R. J. // *EID.* 2010. Vol. 16. P. 1076.
- Cyr T. L., Jenkins M. C., Hall R. D. et al. // *J. Appl. Microbiol.* 2005. Vol. 98. No. 4. P. 962.
- Das S. S., Barthold S. W., Giles S. S. et al. // *J. Clin. Investig.* 1997. Vol. 99. P. 987.
- Dattwyler R. J., Volkman D. J., Luft B. J. et al. // *N. Engl. J. Med.* 1988. Vol. 319. P. 1441.
- DBG Guidelines: Diagnosis and treatment of Lyme borreliosis. Guidelines of the German Borreliosis Society. Revised 2nd edition: December 2010. Deutsche Borreliose-Gesellschaft e.V.
- Delehanti J. B., Ligler F. S. // *Anal. Chem.* 2002. Vol. 74. No. 21. P. 5681.
- Demina T. V., Dzhioev Yu. P., Verkhozina M. M. et al. // *J. Med. Virol.* 2010. Vol. 82. P. 965.
- Derdakova M., Beati L., Petko B. et al. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. No. 1. P. 509.
- Dobler G., Treib J., Kiessig S. T. et al. // *Infection.* 1996. Vol. 24. No. 5. P. 405.
- Donoso-Mantke O., Aberle S. W., Avsic-Zupanc T. et al. // *J. Clin. Virol.* 2007a. Vol. 38. No. 1. P. 73.
- Donoso-Mantke O., Achazi K., Niedrig M. // *Future Virology.* 2007b. Vol. 2. P. 565.
- Doyle C. K., Labruna M. B., Breitschwerdt E. B., et al. // *J. Mol. Diagn.* 2005. Vol. 7. P. 504.
- Doyle C. K., Nethery K. A., Popov V. L., McBride J. W. // *Infect. Immun.* 2006. Vol. 74. P. 711.
- Dressler F., Whalen J. A., Reinhardt B. N., Steere A. C. // *J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 167. P. 392.
- Dressler F., Ackermann R., Steere A. C. // *J. Infect. Dis.* 1994. Vol. 169. P. 313.
- Duan L., Wang Y., Li S. S. et al. // *BMC Infect. Dis.* 2005. www.biomedcentral.com
- Dumler J. S., Barbet A. E., Bekker C. P. et al. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2001. Vol. 51. P. 2145.
- Dumler J. S., Maligan J. E., Pusterla N., Bakken J. S. // *Clin. Infect. Dis.* 2007. Vol. 45. Suppl. 1. P. S45.
- Dumler J. S., Rikihisa Y., Dash G. // *Anaplasma*. / In: Brenner D. J., Krieg N. R., Staley J. T., Garrity G. M., eds. *The Proteobacteria*, Part C, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer. New York, 2005. P. 117.
- Dunning Hotopp J. C., Lin M., Madupu R. et al. // *Comparative genomics of emerging human ehrlichiosis agents. PloS Genet.* 2006. Vol. 2. No. 2. P. e21.
- Dykhuizen D. E., Baranton G. // *Trends Microbiol.* 2001. Vol. 9. P. 472.
- ECDC. Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis. Meeting report. Stockholm, Sweden. 22–23 November 2011.
- Ekins R. P. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1989. Vol. 7. P. 155.
- Ekins R. P. Ligand assays: from electrophoresis to miniaturized microarrays. *Clin. chem.* 1998, Vol. 44. No. 9. P. 2015.
- Ellington A. A., Kullo I. J., Bailey K. R., Klee G. G. // *Clin. Chem.* 2010. Vol. 56. No. 2. P. 186.
- Embers M. E., Jacobs M. B., Johnson B. J. B., Philipp M. T. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14. No. 8. P. 931.
- Engstrom S. M., Shoop E., Johnson R. C. // *J. Clin. Microbiol.* 1995. Vol. 33. P. 419.

- Eshoo M. W., Crowder C. D., Li H. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. No. 2. P. 472.
- Eshoo M. W., Crowder C. C., Rebman A. W. et al. // *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7. No. 5. P. e36825. doi:10.1371/journal.pone.0036825.
- Even-Desrumeaux K., Baty D., Chames P. // *Mol. Biosyst.* 2010. Vol. 6. No. 11. P. 2241.
- Evangard B., Ehrnst A., Vonsydow M. et al. // *AIDS.* 1989. Vol. 3. P. 591.
- Fahrer H., van der Linden S. M., Sauvain M. J. et al. // *J. Infect. Dis.* 1991. Vol. 163. P. 305.
- Fawcett P. T., Gibney K. M., Rose C. D. et al. // *J. Rheumatol.* 1992. Vol. 19. P. 582.
- FDA. / Medical devices: in vitro diagnostics/510 (k) premarket notification. 2010.
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/ctdocs/cfpmn/pmn/clm>.
- Feder H. M., Gerber M. A., Luger S. W., Ryan R. W. // *Clin. Infect. Dis.* 1992. Vol. 15. P. 788.
- Fenolar F., Fournir P.-E., Raoult D. Diagnostic strategy of rickettsioses and ehrlichioses. // In: *Rickettsial Diseases.* / Raoult D., Parola P. eds. New York, London: Informa Healthcare. 2007. P. 315.
- Fenollar F., Raoult D. // *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 1999. Vol. 6. P. 483.
- Fikrig E., Barthold S. W., Sun W. et al. // *Immunity.* 1997. Vol. 6. P. 531.
- Fikrig E., Feng W., Barthold S. W. et al. // *J. Immunol.* 2000. Vol. 164. P. 5344.
- Fingerle V., Schulte-Spechtel U. C., Ruzic-Sabljic E. et al. // *Intern. J. Med. Microbiol.* 2008. Vol. 298. P. 279.
- Fleming R. V., Marques A. R., Klempner M. S. et al. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004. Vol. 23. No. 8. P. 615.
- Fournier P.-E., Dumler J. S., Greub G. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 5456.
- Fraser C. M., Casjens S., Huang W. M. et al. // *Nature.* 1997. Vol. 390. P. 580.
- Fredricks D. N., Relman D. A. // *Clin. Microb. ReVol.* 1996. Vol. 9. No. 1. P. 18.
- Fukunaga M., Takahashi Y., Tsuruta Y. et al. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995. Vol. 45. P. 804.
- Ful Q., Zhul J., Van Eyk J. E. // *Clin. Chem.* 2010. Vol. 56. No. 2314. P. 318.
- Fulton R. J., McDade R. L., Smith P. L. et al. // *Clin. Chem.* 1997. Vol. 43. P. 1749.
- Gajovic O., Todorovic Z., Nestic L., Lazic Z. // *Med. Pregl.* 2010. Vol. 63. No. 11–12. P. 839.
- Ganta R. R., Peddireddi L., Seo G. M. et al. // *Front Biosci.* 2009. Vol. 14. P. 3259.
- Garber E. A., Venkateswaran K. V., O'Brien T. W. // *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. No. 11. P. 6600.
- Gassman C., Bauer G. // *Med. Virol.* 1997. Vol. 51. P. 242.
- Gassmann G. S., Jacobs E., Deutzmann R., Gobel U. B. // *J. Bacteriol.* 1991. Vol. 173. P. 1452.
- Gelpi E., Preusser M., Lagner U. et al. // *J. NeuroVirol.* 2006. Vol. 12. P. 322.
- Gerber L. // IOM (Institute of Medicine). Critical needs and gaps in understanding prevention, amelioration, and resolution of Lyme and other tick-borne diseases: The short-term and long-term outcomes: Workshop report. Washington, D. C. The National Academies Press. 2011. P. 151.
- Gillis M., Vandamme P., De Vos P. et al. // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* 2001. Vol. 1. Springer. New York, Berlin, Heidelberg. P. 43.
- Gilmore R. D. Jr., Mbow M. L., Stevenson B. // *Microbes Infect.* 2001. Vol. 3. P. 799.
- Gilmore R. D. J., Murphree R. L., James A. M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 548.
- Glatz M., Golestani M., Kerl H., Mullegger R. R. // *Arch. Dermatol.* 2006. Vol. 142. No. 7. P. 862.
- Goettner G., Schulte-Spechtel U., Hillermann R. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. No. 8. P. 3602.
- Goji N., Macmillan T., Amoako K. K. // *J. Pathol.* 2012. Vol. 2012. P. 627036.
- Gomes-Solecki M. J. C., Meirelles L., Glass J., Dattwyler R. J. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14. No. 7. P. 875.
- Goodman J. L., Bradley J. F., Ross A. E. et al. // *Am. J. Med.* 1995. Vol. 99. P. 6.
- Goodman J. L., Jurkovich P., Kramber J. M., Johnson R. C. // *Infect. Immun.* 1991. Vol. 59. P. 269.
- Gooskens J., Templeton K. E., Claas E. C., van Dam A. P. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2006. Vol. 12. P. 894.
- Goto A., Hayasaka D., Yoshii K. et al. // *Vaccine.* 2003. Vol. 21. P. 4043.
- Granquist E. G., Stuen S., Crosby L. et al. // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2010. Vol. 133. No. 2–4. P. 117.
- Grignolo M. C., Buffrini L., Monteforte P., Rovetta G. // *Minerva Med.* 2001. Vol. 92. P. 29.
- Gritsun T. S., Frolova T. V., Zhankov A. I. et al. // *J. Virol.* 2003. Vol. 77. No. 1. P. 25.
- Grodzicki R. L., Steere A. C. // *J. Infect. Dis.* 1988. Vol. 157. P. 790.
- Grzeszczuk A., Barat N. C., Bakken J. S., Dumler J. S. // *Rickettsial Diseases.* / Raoult D., Parola P. eds. New York, London: Informa Healthcare. 2007. P. 223.

- Guder W.G., Narayanan S., Wissner H., Zawta B. // *Samples: From the Patient to the Laboratory: The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results*. Wiley VCH GmbH&Co. KGaA, 3rd ed., 2003.
- Günther G., Haglund M., Lindquist L. et al. // *Clin. Diagn. Virol.* 1997. Vol. 8. P. 17.
- Gustafson R., Svenungsson B., Gardulf A. et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* 1990. Vol. 22. P. 297.
- Guy E. C., Robertson J.N., Cimmino M. et al. // *Zentralbl. Bakteriologie*. 1998. Vol. 287. No. 3. P. 241.
- Haab B.B., Dunham M.J., Brown P.O. // *Genome Biol.* 2001. Vol. 2. Research0004.
- Haab B.B., Geierstanger B.H., Michailidis G. et al. // *Proteomics*. 2005. Vol. 5. P. 3278.
- Halperin T., Orr N., Cohen R. et al. // *Acta Trop.* 2006. Vol. 98. P. 189.
- Hammers-Berggren S., Lebech A-M, Karlsson M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1994. Vol. 32. No. 6. P. 1519.
- Han F-C., Li X-J., Jianf H. et al. // *World Gastroenterol.* 2006. Vol. 12. No. 25. P. 4044.
- Hannon W., Lewis D., Jones W. // *Infect. Con. Hosp. Epidemiol.* 1989. Vol. 10. P. 8.
- Hannon H., Behets F., Quinn T. C. // *J. Clin. Microbiol.* 1993. Vol. 31. P. 765.
- Hansen K., Hindersson P., Pedersen N. S. // *J. Clin. Microbiol.* 1988a. Vol. 26. P. 338.
- Hansen K., Bangsborg J.M., Fjordvang H. et al. // *Infect. Immun.* 1988b. Vol. 56. P. 2047.
- Hansen K., Asbrink E. // *J. Clin. Microbiol.* 1989. Vol. 27. P. 545.
- Hansen K., Lebech A-M. // *Ann. Neurol.* 1991. Vol. 30. P. 197.
- Hanson M. S., Cassat D., Guo B. P. et al. // *Infect. Immunol.* 1998. Vol. 66. P. 2143.
- Hartmann M., Roeraade J., Stoll D. et al. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. Vol. 393. P. 1407.
- Hausser U., Wilske B. // *Med. Microbiol. Immunol. (Berlin)*. 1997. Vol. 186. P. 145.
- Hausser U., Lehnert G., Lobentanzer R., Wilske B. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 1433.
- Hausser U., Krahl H., Peters H. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1998a. Vol. 36. P. 427.
- Hausser U., Lehnert G., Wilske B. // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998b. Vol. 5. P. 456.
- Hausser U., Lehnert G., Wilske B. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 2241.
- Hayasaka D., Aoki K., Morita K. // *Virol. J.* 2013. Vol. 10. P. 68.
- Hayasaka D., Gritsun T., Yoshii K. et al. // *J. Gen. Virol.* 2004. Vol. 85. P. 1007.
- Heid C. A., Stevens J., Livak K. J., Williams P. M. // *Genome Res.* 1996. Vol. 6. No. 10. P. 986.
- Heikkilä T., Seppälä I., Saxen H. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2002a. Vol. 40. P. 453.
- Heikkilä T., Seppälä I., Saxen H. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2002b. Vol. 40. P. 1174.
- Heikkilä T., Seppälä I., Saxen H. et al. // *J. Med. Microbiol.* 2002c. Vol. 51. P. 641.
- Heinz F.X., Tuma W., Kunz Ch. // *Infect. Immun.* 1981. Vol. 33. No. 2. P. 250.
- Heinz F.X. // *Vaccine*. 2003. Vol. 21. Suppl. 1. P. 3.
- Herrmann S., Leshem B., Lobel L. et al. // *J. Virol. Meth.* 2007. Vol. 141. No. 2. P. 133.
- Heymann W.R., Ellis D.L. // *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 2012. Vol. 5. No. 8. P. 18.
- Higuchi R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. // *Nat. Biotechnol. (Lond.)*. 1993. Vol. 11. P. 1026.
- Hillyard C. J., Rylatt D. B., Bundesen P. O., Kemp B. E. // *Today Life Science*. 1991. Vol. 3. P. 52.
- Hobson-Peters J., Shan J., Hall R. A., Toye P. // *J. Virol. Meth.* 2010. Vol. 168. No. 1-2. P. 177.
- Hobson-Peters J. // *J. Biotechnol.* 2012. Vol. 2012. P. 379738.
- Hofmann H., Heinz F.X., Dippe H. // *Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiologie. Hyg.* 1983. Vol. 255. No. 4. P. 448.
- Hofmann H., Kunz C., Heinz F.X. // *Arch. Virol.* 1990. Suppl. 1. P. 153.
- Holbrook M. R., Shope R. E., Barret A. D.T. // *J. Clin. Microbiol.* 2004. Vol. 42. No. 9. P. 4101.
- Holmes D. A., Purdy D. E., Chao D. Y. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. No. 7. P. 3227.
- Holzmann H., Stiasny K., Ecker M., Kunz F. // *J. Gen. Virol.* 1997. Vol. 78. P. 31.
- Holzmann H., Utter G., Norrby E. et al. // *J. Gen. Virol.* 1993. Vol. 74. P. 2031.
- Holzmann H. // *Vaccine*. 2003. Vol. 21. S1/36-S1/40.
- Holzmann H., Kundi M., Ctiashny K. et al. // *J. Med. Virol.* 1996. Vol. 48. No. 1. P. 102.
- Hua R.H., Chen N.S., Qin C. F. et al. // *Virol. J.* 2010. Vol. 7. Article 249.
- Hunfeld K.P., Stanek G., Straube E. et al. // *Wien Klin. Wochenschr.* 2002. Vol. 114. No. 13-14. P. 591.
- Huppertz H.-I., Mösbauer S., Busch D.H., Karch H. // *Eur. J. Pediatr.* 1996. Vol. 155. P. 297.
- Ijdo J. W., Zhang V., Hodzic E. et al. // *J. Infect. Dis.* 1997. Vol. 176. No. 3. P. 687.
- Ijdo J. W., Wu C., Magnarelli L. A., Fikrig E. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. No. 11. P. 3540.

- Ijdo J. W., Wu C., Telford S. R. et al. // *Infect. Immunol.* 2002. Vol. 70. P. 5295.
- Ikushima M., Matsui K., Yamada F. et al. // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2000. Vol. 29. P. 15.
- ILADS: The International Lyme and Associated Diseases Society. Evidence-based guidelines for the management of Lyme disease. // *Expert Rev. Anti-infect. Ther.* 2004. Vol. 2. No. 1. S1-S13.
- Inokuma H., Brouqui P., Drancourt M., Raoult D. // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. P. 3031.
- IOM (Institute of Medicine). Diagnostics and diagnosis. // *Critical needs and gaps in understanding prevention, amelioration, and resolution of Lyme and other tick-borne diseases: The short-term and long-term outcomes: Workshop report.* Washington, D.C.: The National Academies Press. 2011. P. 125 (p. 125–154).
- Ionescu R. E., Cosnier S., Hermann S., Marks R. S. // *Anal. Chem.* 2007. Vol. 79. No. 22. P. 8662.
- Ismail N., Bloch K. C., McBride J. W. // *Clin. Lab. Med.* 2010. Vol. 30. No. 1. P. 261.
- Ivanova L., Christova I., Neves V. et al. // *Clin. Immunol.* 2009. Vol. 132. No. 3. P. 393.
- Jaaskelainen A., Han X., Niedrig M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. No. 9. P. 4336.
- Jacobs S. C., Stephenson J. R., Wilkinson G. W. G. // *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. P. 2399.
- Jang J. M. et al. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2002. Vol. 17. P. 605.
- Jansson C., Carlsson S. A., Granlund H. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2005. Vol. 11. No. 2. P. 147.
- Jauris-Heipke S., Fuchs R., Motz M. et al. // *Med. Microbiol. Immunol.* 1993. Vol. 182. P. 37.
- Jauris-Heipke S., Rossle B., Wanner G. et al. // *Med. Microbiol. Immunol. (Berlin).* 1999. Vol. 187. P. 213.
- Johns R., Ohnishi J., Broadwater A. et al. // *J. Med. Entomol.* 2001. Vol. 38. P. 99.
- Johnson A. J., Noga A. J., Kosoy O. et al. // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2005. Vol. 12. No. 5. P. 566.
- Johnson B. J., Robbins K. E., Bailey R. E. et al. // *J. Infect. Dis.* 1996. Vol. 174. P. 346.
- Johnson B. J. B. // *CAB international* (ed. J. J. Halperin). 2011. P. 73.
- Joos T., Bachmann J. // *Front. Biosci.* 2009. Vol. 14. P. 4376.
- Jovicić V. Lj., Grego E. M., Lako B. L. et al. // *APMIS.* 2003. Vol. 111. No. 11. P. 1053.
- Kaiser R. // *J. Med. Microbiol.* 2000. Vol. 49. No. 10. P. 911.
- Kaiser R., Holzmann H. // *Infection.* 2000. Vol. 28. No. 2. P. 78.
- Kaiser R., Rauer S. // *Infection.* 1999. Vol. 27. P. 177.
- Kalish R. A., McHugh G., Granquist J. et al. // *Clin. Infect. Dis.* 2001. Vol. 33. No. 6. P. 780.
- Kang X., Li Y., Fan L. et al. // *Virology.* 2012. Vol. 9. P. 56.
- Karlsson M., Stiernstedt G., Granstrom M. et al. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1990. Vol. 9. P. 169.
- Khasnatinov M. A., Ustaniikova K., Frolova T. V. et al. // *PloS ONE.* 2009. Vol. 4. No. 10. e7295.
- Kiermayr S., Stiasny K., Heinz F. X. // *J. Virol.* 2009. Vol. 83. P. 8462.
- Kingsmore S. F. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006. Vol. 5. P. 310.
- Kleiter I., Jilg W., Bogdahn U., Steinbrecher A. // *Infection.* 2007. Vol. 35. No. 1. P. 26.
- Klempner M. S., Hu L. T., Evans J. et al. // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 345. P. 85.
- Knapp N., Korva M., Dolinšek V. et al. // *VBZD.* 2011. Vol. 11. P. 659.
- Kondrusik M., Grygorczuk S., Skotarczak B. et al. // *Pol. Merkur. Lekarski.* 2004. Vol. 17. No. 102. P. 593.
- Kondrusik M., Grygorczuk S., Skotarczak B. et al. // *Ann. Agric. Environ.* 2007. Vol. 14. P. 209.
- Korenberg E. I., Kovalevskii Y. V., Karavanov A. S., Moskvitina G. G. // *Med. Vet. Entomol.* 1999. No. 13. P. 204.
- Korenberg E. I., Nefedova V. V., Fadeeva I. A., Gorelova N. B. // *Molecular Biology of Spirochetes.* Amsterdam. IOS Press. 2006. P. 174.
- Kovalev S. Y., Makhacheva T. A., Kokorev V. S., Belyaeva I. V. // *Virus Genes.* 2012. Vol. 44. P. 217.
- Krupka I., Knauer J., Lorentzen L. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. Vol. 16. No. 11. P. 1546.
- Kugeler K. J., Mead P. S., McGowan K. L. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2008. Vol. 46. P. 2428.
- Kumar R. M. // *Am. J. Infect. Dis.* 2009. Vol. 5. P. 207.
- Lagal V., Postic D., Ruzic-Sabljic E., Baranton G. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 5059.
- Lahdenne P., Panellius J., Saxen H. et al. // *J. Med. Microbiol.* 2003. Vol. 52. P. 563.
- Lahdenne P., Sarvas H., Kajanus R. et al. // *J. Med. Microbiol.* 2006. Vol. 55. P. 1499.
- Lashkari D. A., DeRisi J. L., McCusker J. H. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. No. 24. P. 13057.
- Lawrenz M. B., Hardham J. M., Owens R. T. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 3997.
- Lee C. C., Lin Y. C., Tsang C. L., Chung Y. T. // *Turk. J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 36. No. 2. P. 205.

- Lee Y. F., Lien K. Y., Lei H. Y., Lee G. B. // *Biosensors and Bioelectronics*. 2009. Vol. 25. No. 4. P. 745.
- Lee S. H., Vighiotti V. S., Vighiotti J. S. et al. // *BMC Research Notes*. 2010a. Vol. 3. P. 273.
- Lee S. H., Vighiotti V. S., Vighiotti J. S. et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* 2010b. Vol. 133. P. 569.
- Ledue T. B., Collins M. F., Craig W. Y. // *J. Clin. Microbiol.* 1996. Vol. 34. P. 2343.
- Ledue T. B., Collins M. F., Young J., Schriefer M. E. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2008. Vol. 15. P. 1796.
- Lencáková D., Fingerle V., Stefancíková A. et al. // *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008. Vol. 8. No. 3. P. 381.
- Lerner M. B., Dailey J., Goldsmith B. R. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. 2013. Vol. 45. P. 163.
- Leski T. A., Lin B., Malanoski A. P. et al. // *PLoS One*. 2009. Vol. 4. No. 8. e6569.
- Li B., Jiang L., Song Q. et al. // *Infection and Immunity*. 2005. Vol. 73. No. 6. P. 3734.
- Lian W., Wu D., Lim D. V., Jin S. // *Anal. Biochem.* 2010. Vol. 401. No. 2. P. 271.
- Liang F. T., Alvarez A. L., Gu Y. et al. // *J. Immunol.* 1999a. Vol. 163. P. 5566.
- Liang F. T., Steere A. C., Marques A. R. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999b. Vol. 37. No. 12. P. 3990.
- Liang F. T., Aberer E., Cinco M. et al. // *J. Infect. Dis.* 2000. Vol. 182. P. 1455.
- Lin T. M., Schubert C. M., Shih F. F. et al. // *J. Immunoassay*. 1991. Vol. 12. P. 325.
- Ling M. M., Ricks C., Lea P. // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2007. Vol. 7. P. 87.
- Livanova N. N., Morozova O. V., Morozov I. V. et al. // *Eur. J. Epidemiol.* 2003. Vol. 18. P. 1155.
- Liveris D., Wang G., Girao G. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2002. Vol. 40. P. 1249.
- Liveris D., Schwartz I., McKenna D. et al. // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2012. Vol. 73. No. 3. P. 243.
- Lodes M. J., Monamath R., Reynolds L. D. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. No. 7. P. 2466.
- Loftis A. D., Massung R. F., Levin M. L. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. No. 8. P. 3870.
- Lopez M., Mallorin P., Vega M. // *Aplicaciones de los Microarrays y biochips en salud humana*. 2007. P. 90.
- Lotric-Furlan S., Petrovec M., Zupanc T. A. et al. // *Clin. Infect. Dis.* 1998. Vol. 27. P. 424.
- Ludolfs D., Reinholz M., Schmitz H. // *J. Clin. Virol.* 2009. Vol. 45. No. 2. P. 125.
- Ludwig W., Klenk H.-P. // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. V.1. Springer. New York, Berlin, Heidelberg. 2001. P. 49.
- Luft B. J., Dunn J. J., Dattwyler R. J. et al. // *Res. Microbiol.* 1993. Vol. 144. P. 251.
- Luo T., Zhang X., Wakeel A. et al. // *Infect. Immun.* 2008. Vol. 76. No. 4. P. 1572.
- Luo T., Zhang X., McBride J. W. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. Vol. 16. P. 982.
- Luo T., Zhang X., Nicholson W. L. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2010. Vol. 17. No. 1. P. 87.
- MacBeath G., Schreiber S. L. // *Science*. 2000. Vol. 289. No. 5485. P. 1760.
- MacBeath G. // *Nat. Genet.* 2002. Vol. 32. P. 526.
- Magnarelli L. A., Fikrig E., Padula S. J. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1996. Vol. 34. P. 237.
- Magnarelli L. A., Ijdo J. W., Dumler J. S. et al. // *J. Infect. Dis.* 1998. Vol. 178. P. 1835.
- Magnarelli L. A., Ijdo J. W., Padula S. J. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38. P. 1735.
- Magnarelli L. A., Lawrenz M., Norris S. J., Fikrig E. // *J. Med. Microbiol.* 2002. Vol. 51. P. 649.
- Mandl C. W., Guirakhoo F., Holzmann H. et al. // *J. Virol.* 1989. Vol. 63. P. 564.
- Mansfield K. L., Johnson N., Phipps L. P. et al. // *J. Gen. Virol.* 2009. Vol. 90. P. 1781.
- Mansfield K. L., Horton D. L., Johnson N. et al. // *J. Gen. Virol.* 2011. Vol. 92 (Pt 12). P. 2821.
- Marangoni A., Sparacino M., Carvini F. et al. // *J. Med. Microbiol.* 2005. Vol. 54. P. 361.
- Maraspin V., Ruzic-Sabljic E., Cimperman J. et al. // *Infection*. 2001. Vol. 29. P. 65.
- Marconi R. T., Garon C. F. // *J. Clin. Microbiol.* 1992. Vol. 30. No. 11. P. 2830.
- Margos G., Hojgaard A., Lane R. S. et al. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2010. Vol. 1. P. 151.
- Margos G., Vollmer S. A., Ogdon N. H., Fich D. // *Infect. Gen. Evol.* 2011. Vol. 11. P. 1545.
- Marques A., Brown M. R., Fleisher N. A. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. Vol. 16. P. 1249.
- Martin D. A., Muth D. A., Brown T. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38. No. 5. P. 1823.
- Martin W., Embley T. M. // *Nature*. 2004. Vol. 431. No. 9. P. 134.
- Massung R. F., Slater K., Owens J. H. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 1090.
- Masuzawa T., Kurita T., Kawabata H., Yanagihara Y. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1994. Vol. 123. P. 319.
- Mathiesen M. J., Hansen K., Axelsen N. et al. // *Med. Microbiol. Immunol. (Berlin)*. 1996. Vol. 185. P. 121.
- Mathiesen M. J., Holm A., Christiansen M. et al. // *Infect. Immun.* 1998a. Vol. 66. P. 4073.

- Mathiesen M. J., Christiansen M., Hansen K. et al. // J. Clin. Microbiol. 19986. Vol. 36. P. 3474.
- Matveeva V. A., Popova R. V., Kvetkova E. A. et al. // Immunology Letters. 1995. Vol. 46. P. 1.
- McBride J. W., Comer J. E., Walker D. H. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2003. Vol. 990. P. 678.
- McCabe E. R. B. // PCR Methods Appl. 1991. Vol. 1. P. 99.
- McEwen J., Reilly P. // Am. J. Human Genet. 1994. Vol. 55. P. 196.
- Mediannikov O., Ivanov L., Zdanovskaya N. et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2005. Vol. 1063. P. 3008.
- Mendoza L. G., McQuary P., Mongan A. et al. // Biotechniques. 1999. Vol. 27. P. 778.
- Methods in molecular Biology-Microfluidic Diagnostics. / Jenkins G., Mansfield C. D. (eds). Humana Press. 2012.
- Mezzasoma L., Bacarese-Hamilton T., Crisanti A. et al. // Clin. Chem. 2002. Vol. 48. P. 121.
- Mogilyansky E., Loa C. C., Adelson M. E. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2004. Vol. 11. P. 924.
- Molloy P. J., Persing D. H., Berardi V. P. // Clin. Infect. Dis. 2001. Vol. 33. No. 3. P. 412.
- Moody M. D., Van Arsdell S. W., Murphy K. P. et al. // Biotechniques. 2001. Vol. 31. P. 186.
- Moravcova L., Picha D., Vanousova D., Hercogova J. // Klin. Mikrobiol. Infec. Lek. 2009. Vol. 15. No. 5. P. 160.
- Morozova O., Rar V., Igolkina Y. et al. // Molecular Biology of Spirochetes. 2006. IOS Press. Amsterdam. P. 221.
- Morrison T. B., Ma Y., Weis J. H., Weis J. J. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. P. 987.
- Müllegger R. R., Glatz M. // Lyme Borreliosis. Curr. Probl. Dermatol / Lipsker D., Jaulhac B. (eds). Basel, Karger, 2009. Vol. 37. P. 178.
- Muller I., Freitag M. H., Poggensee G. et al. // Clin. Developm. Immunol. 2012. Vol. 2012. Article ID 595427. 13 p. doi: 10.1155/2012/595427.
- Mun J., Eisen R., Eisen L., Lane R. S. // J. Med. Entomol. 2006. Vol. 43. P. 120.
- Murgia R.; Cinco M. // APMIS. 2004. Vol. 112. P. 57.
- Mygland A., Ljostad U., Fingerle V. et al. // Eur. J. Neurol. 2010. Vol. 18. P. 8.
- Nadelman R. B., Wormser G. P. // Clin. Infect. Dis. 2007. Vol. 45. No. 8. P. 1032.
- Nadelman R. B., Havincova K., Mukherjee P. et al. // N. Engl. J. Med. 2012. Vol. 367. No. 20. P. 1883.
- Neng J., Harpster M. H., Zhang H. et al. // Biosensors ad Bioelectronics. 2010. Vol. 26. No. 3. P. 1009.
- Neuman de Vegvar H. E., Robinson W. H. // Clin. Immunol. 2004. Vol. 111. P. 196.
- Nichkova M., Dosev D., Gee S. J. et al. // Anal. Biochem. 2007. Vol. 369. P. 34.
- Nicholson W. L., Comer J. A., Sumner J. W. et al. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 1510.
- Niedrig M., Vaisviliene D., Teichmann A., et al. // J. Clin. Virol. 2001. Vol. 20. P. 179.
- Niedrig M., Avsic T., Aberle S. W. et al. // J. Clin. Virol. 2007. Vol. 38. No. 3. P. 260.
- Nolte O. // Open Neurol. J. 2012. Vol. 6. P. 129.
- Nowakowski J., McKenna D., Nadelman R. B. // Clin. Infect. Dis. 2009. Vol. 49. P. 1733.
- Ntchobo H., Rothermel H., Chege W. et al. // Infect. Immun. 2001. Vol. 69. P. 1953.
- Obara M., Yoshii K., Kawata T. et al. // J. Virol. Meth. 2006. Vol. 134. No. 1–2. P. 55.
- Ohashi N., Rikihisa Y., Unver A. // Infect. Immun. 2001. Vol. 69. P. 2083.
- Ojaimi C., Brooks C., Casjens S. et al. // Infect. Immun. 2003. Vol. 71. P. 1689.
- Oksi J., Uksila J., Marjamaki M. et al. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33. P. 2260.
- Olano J. P., Masters E., Hogrefe W., Walker D. H. // Emerg. Infect. Dis. 2003. Vol. 9. P. 1579.
- Ornstein K., Ostberg Y., Bunikis J. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002. Vol. 9. No. 6. P. 1382.
- Oshaghi M. A., Rafinejad J., Choubdar N. et al. // Vector-Borne and Zoonotic Dis. 2011. Vol. 11. P. 201.
- Osin N. S., Pomelova V. G. // NIAID, NIH. Frontiers in research. Humana Press. 2008. Vol. 1. Section 24. P. 233 (p. 233–240).
- Paddock C. D., Childs J. E. // Clin. Microbiol. ReVol. 2003. Vol. 16. P. 37.
- Paddock C. D., Sumner J. W., Shore G. M. et al. // Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 2496.
- Padula S. J., Dias F., Sampieri A. et al. // J. Clin. Microbiol. 1994. Vol. 32. P. 1733.
- Pahl A., Kuehlbrandt U., Brune K. et al. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. P. 1958.
- Palmer G. H., Brown W. C., Rurangirwa F. R. // Microbes Infect. 2000. Vol. 2. P. 167.
- Panelius J., Lahdenne P., Saxen H. et al. // J. Clin. Microbiol. 2001. Vol. 39. P. 4013.
- Panelius J., Lahdenne P., Heikkila T. et al. // J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 51. P. 731.
- Panelius J., Lahdenne P., Saxen H. et al. // J. Neurol. 2003. Vol. 250. P. 1318.

- Panelius J., Sillanpaa H., Seppala I. et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 39. No. 9. P. 775.
- Park J., Choi K. S., Dumler J. S. // *Infect. Immun.* 2003. Vol. 71. P. 4018.
- Parker S. P., Cubitt W. D. // *J. Clin. Pathol.* 1999. Vol. 52. P. 633.
- Parthasarathy N., DeShazer D., England M., Waag D. M. // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2006. 4 p.
www.sciencedirect.com
- Pauli D., Kirchner S., Stoermann B. et al. // *Analyst.* 2009. Vol. 134. No. 10. P. 2028.
- Peddireddi L., Cheng C., Ganta R. R. // *BMC Microbiol.* 2009. Vol. 9. P. 99.
- Peltomaa M., McHugh G., Steere A. C. // *J. Infect. Dis.* 2003. Vol. 187. P. 1178.
- Perrin A., Duracher D., Perret M et al. // *Anal. Biochem.* 2003. Vol. 322. P. 148.
- Petersen E., Tolstrup M., Capuano F., Ellerman-Eriksen S. // *BMC Clin. Pathol.* 2008. Vol. 18, No. 8. P. 4.
- Philipp M. T., Marques A. R., Fawcett P. T. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 4955.
- Picha D., Moravcova L., Holeckova D. et al. // *Int. J. Dermatol.* 2008. Vol. 47. No. 10. P. 1004.
- Pickering J. M., Hoopes J. D., Groll M. C. et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* 2007. Vol. 128. No. 1. P. 23.
- Platonov A. E., Karan L. S., Kolyasnikova N. M. et al. // *EID.* 2011. Vol. 17. P. 1816.
- Plebani M. // *Ann. Clin. Biochem.* 2010. Vol. 47. P. 101.
- Popov V. L., Korenberg E. I., Nefedova V. V. et al. // *Vector-borne and Zoonotic Dis.* 2007. Vol. 7. No. 4. P. 699.
- Popov V. L., Yu X., Walker D. H. // *Microb. Pathog.* 2000. Vol. 28. P. 71.
- Porwancher R. H., Hagerly C. G., Fan J. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2011. Vol. 18. P. 851.
- Postic D., Assous M. V., Grimont P. A. D., Baranton G. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1994. Vol. 44. P. 743.
- Postic D., Garnier M., Baranton G. // *Intern. J. Med. Microbiol.* 2007. Vol. 297. P. 263.
- Priem S., Rittig M. G., Kamradt T. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 685.
- Prince H. E., Hogrefe W. R. // *Clin. Appl. Immunol. Revol.* 2005. Vol. 5. No. 1. P. 45.
- Prince H. E., Lape-Nixon M., Yeh C. et al. // *J. Clin. Virol.* 2008. Vol. 43. No. 1. P. 102.
- Pripuzova N., Wang R., Tsai S. et al. // *PLoS One.* 2012. Vol. 7. No. 8. e43246.
- Protein arrays, biochips, and proteomics. // The next phase of genomic discovery. /* Albala J. S., Humphery-Smith I. (eds.).
N-Y-Basel, Marcell Dekker, Inc. 2003. P. 392.
- Puchhammer-Stöckl E., Kunz C., Mandl C., Heinz F.X. // *Clin. Diagn. Virol.* 1995. Vol. 4. P. 321.
- Ramamoorthy R., Povinelli L., Philipp M. T. // *Infect. Immun.* 1996. Vol. 64. P. 1259.
- Rar V. A., Fomenko N. V., Dobrotvorsky A. K. et al. // *EID.* 2005. Vol. 11. P. 1708.
- Rasiah C., Schiltz E., Reichert J., Vogt A. // *J. Gen. Microbiol.* 1992. Vol. 138. P. 147.
- Rauer S., Spohn N., Rasiah C. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 857.
- Ravyn M. D., Goodman J. L., Kodner C. B. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. No. 6. P. 1480.
- Reimer B.; Marschang A.; Fingerle V. et al. // *Zentbl. Bakteriol.* 1999. Vol. 289. P. 653.
- Relman D. A. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002. Vol. 67. P.133.
- Resnick L., Veren K., Salahuddin S. et al. // *JAMA.* 1986. Vol. 255. P. 1887.
- Rey F. A., Heinz F.X., Mandl C. et al. // *Nature.* 1995. Vol. 375. P. 291.
- Rich S. M., Armstrong P. M., Smith R. D., Telford III S.R. // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. P. 494.
- Richter D., Postic D., Sertourb N. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2006. Vol. 56. P. 873.
- Richter D., Schlee D., Matuschka F. // *EID.* 2003. Vol. 9. P. 697.
- Rikihisa Y. // *Microbiology.* 2010. Vol. 8. P. 328.
- Rickettsial Diseases. /* Raoult D., Parola P. eds. New York, London: Informa Healthcare. 2007. 399 p.
- Roberts W. C., Mullikin B. A., Lathigra R., Hanson M. S. // *Infection and Immunity.* 1998. Vol. 66. No. 11. P. 5275.
- Robertson J. A., Crill W. D., Chang G. J. // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45. No. 10. P. 3167.
- Robertson J., Guy E., Andrews N. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38. P. 2097.
- Roehrig J. T. // *Adv. Virus Res.* 2003. Vol. 59. P. 141.
- Roessler D., Hauser U., Wilske B. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 2752.
- Rosa P. A., Schwan T. G. // *J. Infect. Dis.* 1989. Vol. 160. P. 1018.
- Rudenko N., Golovchenko M., Grubhoffer L., Oliver J. // *J. Clin. Microbiol.* 2009. Vol. 47. P.134.
- Ruzek D., Stastna H., Kopecky J. et al. // *J. Virol. Meth.* 2007. Vol. 144. P. 133.
- Ruzic-Sabljić E., Maraspin V., Cimperman J. et al. // *Wien Klin. Wochenschr.* 2002. Vol. 114. No. 13–14. P. 586.

- Rymaszewska A. // *Veterinary Medicina*. 2011. Vol. 56. P. 529.
- Sadzienne A., Jonsson M., Bergstrom S. et al. // *Infect. Immun.* 1994. Vol. 62. P. 2037.
- Sadzienne A., Thompson P.A., Barbour A. G. // *J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 167. P. 165.
- Saksida A., Duh D., Lotric-Furlan S. et al. // *J. Clin. Virol.* 2005. Vol. 33. P. 331.
- Sambol A. R., Hinrichs S. H., Hogrefe W. R., Schweitzer B. K. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2007. Vol. 14. No. 1. P. 87.
- Santino I., Berlutti F., Pantanella F. et al. // *FEMS Microbiol Lett.* 2008. Vol. 283. P. 30.
- Saviranta P., Okon R., Brinker A. et al. // *Clin. Chem.* 2004. Vol. 50. P. 1907.
- Schena M., Shalon D., Davis R. W., Brown P. O. // *Science*. 1995. Vol. 270. No. 5235. P. 467.
- Schmidt B. L. // *Clin. Microbiol. Revol.* 1997. Vol. 10. P. 185.
- Schmitz H., Gabriel M., Emmerich P. // *Med. Microbiol. Immunol.* 2011. Vol. 200. No. 4. P. 233.
- Schouls L. M., van de Pol I., Rijpkema S. G. T., Schot C. S. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. No. 7. P. 2215.
- Schultze D., Dollenmaier G., Rohner A. et al. // *J. Clin. Virol.* 2007. Vol. 38. P. 172.
- Schwaiger M., Peter O., Cassinotti P. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2001. Vol. 7. P. 461.
- Schwaiger M., Cassinotti P. // *J. Clin. Virol.* 2003. Vol. 27. P. 136.
- Schwartzova K., Kost'anova Z., Holecikova K. et al. // *Cent. Eur. J. Public Health.* 2009. Vol. 17. No. 4. P. 179.
- Schulte-Spechtel U., Lehnert G., Liegl G. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. P. 1299.
- Schwan T. G., Piesman J., Golde W. T. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. P. 2909.
- Schwan T. G., Piesman J. // *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38. P. 382.
- Schwan T. G., Piesman J. // *Emerg. Infect. Dis.* 2002. Vol. 8. P. 115.
- Schwan T. G., Raffel S. J., Schrumpf M. E. et al. // *VBZD.* 2009. Vol. 9. P. 643.
- Schwan T. G., Schrumpf M. E., Hinnebusch B. J. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1996. Vol. 34. P. 2483.
- Scorpio D. G., Caspersen K., Ogata H. et al. // *BMC Microbiol.* 2004. Vol. 4. P. 1.
- Seriburi V., Ndukwe N., Chang Z. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Dec 7. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03749.x. [Epub ahead of print].
- Seurynck-Servoss S.L., White A. M., Baird C. L. et al. // *Anal. Biochem.* 2007. Vol. 371. P. 105.
- Shaikh N. A., Ge J., Zhao Y. X. et al. // *Clin. Chem.* 2007. Vol. 53. No. 11. P. 2031.
- Shrestha M., Grodzicki R. L., Steere A. C. // *Am. J. Med.* 1985. Vol. 78. P. 235.
- Sider D., Patel S., Russel C. et al. // *PHO Technical report: update on Lyme disease prevention and control.* 2012. 11 p.
- Sillanpaa H., Lahdenne P., Sarvas H. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2007. Vol. 297. P. 45-52.
- Simonova M. A., Valyakina T. I., Petrova E. E. et al. // *Anal. Chem.* 2012. Vol. 84. No. 15. P. 6326.
- Simpson W. J., Cieplak W., Schrumpf M. E. et al. // *FEMS Microbiol. Lett.* 1994. Vol. 119. P. 381.
- Simpson W. J., Schrumpf M. E., Schwan T. G. // *J. Clin. Microbiol.* 1990. Vol. 28. P. 1329.
- Sirigireddy K. R., Ganta R. R. // *J. Mol. Diagn.* 2005. Vol. 7. P. 308.
- Skare J. T., Mirzabekov T. A., Shang E. S. et al. // *Infection and Immunity.* 1997. Vol. 65. No. 9. P. 3654.
- Skarpaas T., Ljostad U., Søybe M., Mygland A. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2007. Vol. 26. No. 9. P. 675.
- Skocir M. L., Rusic-Sabljić E., Maraspin-Cartman V. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2008. Vol. 298. No. 5-6. P. 493.
- Smismans A., Goossens V. J., Nulens E., Bruggeman C. A. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2006. Vol. 12. No. 7. P. 648.
- Smits G. P., van Gageldonk P. G., Schouls L. M. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2012. Vol. 19. P. 396.
- Sonnenberg K., Niedrig M., Steinhagen K. et al. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2004. Vol. 293. Suppl. 37. P. 148.
- Stanek G., Breier F., Menzinger G. et al. // *Wien Klin. Wochenschr.* 1999. Vol. 111. No. 22-23. P. 951.
- Stanek G., Fingerle V., Hunfeld K.-P. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Vol. 17. P. 69.
- Stanek G., O'Connell S., Cimmino M. et al. // *Wien Klin. Wochenschr.* 1996. Vol. 108. P. 741.
- Stanek G., Reiter M. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Vol. 17. P. 487.
- Stanek G., Wormser G. P., Gray J., Strle F. // *Lancet.* 2012. Vol. 379. No. 9814. P. 461.
- Steere A. C. // *N. Engl. J. Med.* 1989. Vol. 321. P. 586.
- Steere A. C., Bartenhagen N. H., Craft J. E. et al. // *Ann. Int. Med.* 1983. Vol. 99. P. 76.
- Steere A. C., Drouin E. E., Glickstein L. J. // *Clin. Infect. Dis.* 2011. Vol. 52. No. 3. P. 259.
- Steere A. C., McHugh G., Dample N., Sikand V. K. // *Clin. Infect. Dis.* 2008, 47: 188-194.
- Steere A. C., Sikand V. K., Schoen R. T., Nowakowski J. // *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37: 528-532.
- Steinberg R., Beck J., Nickerson D. et al. // *Epidemiology.* 2002. Vol. 13. P. 256.

- Stiasny K., Kiermayr S., Holzmann H., Heinz F.X. // *J. Virol.* 2006. Vol. 80. No. 19. P. 9557.
- Stiasny K., Aberle J.H., Chmelik V. et al. // *J. Clin. Virol.* 2012. Vol. 54. No. 2. P. 115.
- Stricker R.B., Winger E.E. // *Immunol. Lett.* 2001. Vol. 76. P. 43.
- Strle F., Stanek G. // *Clinical manifestation and diagnosis of Lyme Borreliosis / Lipsker D., Jaulhac B. (eds): Lyme Borreliosis. Curr. Probl. Dermatol. Basel, Karger. 2009. Vol. 37, P. 51 (p. 51–110).*
- Sumner J.W., Childs J.E., Paddock C.D. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 1447.
- Sumner J.W., Nicholson W.L., Massung R.F. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. Vol. 35. P. 2087.
- Taketa-Graham M., Powell Pereira J.L., Baylis E. et al. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010. Vol. 82. No. 3. P. 501.
- Tajima T., Zhi N., Lin Q. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2000. Vol. 7. P. 652.
- Teles F.S.R.R. // *Analytica Clinica Acta.* 2011. Vol. 687. No. 1. P. 28.
- Telford III S.R., Goethert H.K. // *Parasitology.* 2004. Vol. 129. P. 301.
- Templin M.F., Stoll D., Schwenk J.M. et al. // *Proteomics.* 2003. Vol. 3. P. 2155.
- Theisen M., Frederiksen B., Lebech A.M. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1993. Vol. 31. P. 2570.
- Thepparit C., Sunyakumthorn M., Guillotte M.L. et al. // *PLoS ONE.* 2011. Vol. 6. P. E 16396.
- Therrell B.L., Hannon W.H., Pass K.A. et al. // *Biochem. Mol. Med.* 1996. Vol. 57. No. 2. P. 116.
- Thibodeaux B.A., Roehrig J.T. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. Vol. 16. No. 5. P. 679.
- Thomas R.J., Dumler J.S., Carlyon J.A. // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2009. Vol. 7. No. 6. P. 709.
- Tilton R.C. // *J. Spirochetal and Tick-borne diseases.* 1994. Vol. 1. No. 1. P. 1.
- Timofeev A.V., Ozherelkov S.V., Pronin A.V. et al. // *J. Gen. Virol.* 1998. Vol. 79. P. 689.
- Timofeev A.V., Butenko A.M., Stephenson J.R. // *Virus Genes.* 2004. Vol. 28. P. 85.
- Trejejo R.T., Krause P.J., Sikand V.K. et al. // *J. Infect. Dis.* 1999. Vol. 179. P. 931.
- Tyagi S., Kramer F.R. // *Nat. Biotechnol.* 1996. Vol. 14. No. 3. P. 303.
- Tylewska-Wierzbanowska S.; Chmielewski T. // *Wien Klin. Wochenschr.* 2002. Vol. 114. P. 601.
- Ullman A.J., Gabitzsch E.S., Schulze T.L. et al. // *J. Med. Entomol.* 2005. Vol. 42. P. 1057.
- URL 1990. Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) 1990 Case Definition.
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtm/00025629.htm> (IV).
- URL 2008. Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) 2008 Case Definition.
http://www.cdc.gov/ncphi/diss/nndss/casedef/lyme_disease_2008.htm (IV).
- van Buregel N.D., Brandenburg A., Gerritsen H.J. et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Vol. 17. No. 10. P. 1495.
- Vasiliskov V., Tirnofeev E., Surzhikov S. et al. // *BioTechniques.* 1999. Vol. 27. P. 592.
- Vaughan K., Greenbaum J., Blythe M. et al. // *Viral Immunol.* 2010. Vol. 23. No. 3. P. 259.
- de Vegvar Neuman H.E., Robinson W.H. // *Clin. Immunol.* 2004. Vol. 111. P. 196.
- Venturi G., Mel R., Marchi A. et al. // *J. Virol. Meth.* 2006. Vol. 134. No. 1–2. P. 136.
- Venturi G., Martekki P., Mazzolini E. et al. // *J. Med. Virol.* 2009. Vol. 81. No. 4. P. 665.
- Verma A., Brissette C.A., Bowman A., Stevenson B. // *Infect. Immun.* 2009. Vol. 77. No. 11. P. 4940.
- Viseshakul N., Kamper S., Bowie M.V., Barbet A.F. // *Gene.* 2000. Vol. 253. P. 45.
- Volkova T.D., Vorovitch A.B., Timofeev A.B. et al. // *Arch. Virol.* 1999. Vol. 144. No. 5. P. 1035.
- Ullman A.J., Gabitzsch E.S., Schulze T.L. et al. // *J. Med. Entomol.* 2005. Vol. 42. P. 1057.
- Unver A., Rikihisa Y., Ohashi N. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 3888.
- Unver A., Felek S., Paddock C. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2001. Vol. 39. P. 3982.
- Wodecka B., Leonska A. and Skotarczak B. // *J. Med. Microbiol.* 2010. 59. P. 309.
- Wagner B., Freer H., Rollins A., Erb H.N. // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011a. Vol. 140. No. 3–4. P. 190.
- Wagner B., Freer H., Rollins A. et al. // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011b. Vol. 144. No. 3–4. P. 374.
- Wagner B., Freer H., Rollins A. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2012. Vol. 19. No. 4. Vol. 527.
- Wagner E.R., Bremer W.G., Rikihisa Y. et al. // *Mol. Cell. Probes.* 2004. Vol. 18. P. 111.
- Wakeel A., Kuriakose J.A., McBride J.W. // *Infect. Immun.* 2009. Vol. 77. P. 1734.
- Walls J.J., Aguero-Rosenfeld M., Bakken J.S. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 2968.
- Wang, Wormser G.P., Schriefer M.E., Luft B.J. // *Infect. Immun.* 1999. Vol. 67. P. 3518.
- Weber K., Preac-Mursic V., Wilske B. et al. // *Infection.* 1990. Vol. 18. P. 91.
- Weingart O.G., Gao H., Crevoisier F. et al. // *Sensors.* 2012. Vol. 12. No. 2. P. 2324.

- Wellhausen K., Seitz H. // J. Biomed. Biotechnol. 2012. P. 831347.
- Whitelegga A. M.E., Birtwistle J., Richtera A. et al. // J. Immunol. Meth. 2012. Vol. 377. No. 1–2. P. 37.
- Wiese R., Belosludtsev Y., Powdrill T. et al. // Clin. Chem. 2001. Vol. 47. No. 8. P. 1451.
- Wilske B., Preac-Mursic V., Schierz G., Busch K. V. // Zentbl. Bakteriol. 1986a. Vol. 263. P. 92.
- Wilske B., Fingerle V., Herzer P. et al. // Med. Microbiol. Immunol. 1993a. Vol. 182. P. 255.
- Wilske B., Jauris-Heipke S., Lobentanzer R. et al. // J. Clin. Microbiol. 1995. Vol. 33. P. 103.
- Wilske B., Hauser U., Lehnert G., Jauris-Heipke S. // Wien. Klin. Wochenschr. 1998. Vol. 110. No. 24. P. 882.
- Wilske B., Fingerle V., Hauser U. et al. // Zent. Bl. Bakteriol. 1999a. Vol. 289. P. 675.
- Wilske B., Habermann C., Fingerle V. et al. // Med. Microbiol. Immunol. 1999b. Vol. 188. P. 139.
- Wilske B., Zöller L., Brade V. et al. // MIQ 12 Lyme-Borreliose. In Qualitätsstandards in der mikrobiologisch infektologischen Diagnostik / Edited by Mauch H. and Lütticken R.; im Auftrag der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Urban & Fischer Verlag, München Jena. 2000. (English version: <http://www.dghm.org/red/index.html?cname=MIQ>).
- Wilske B. // Int. J. Med. Microbiol. 2002. Vol. 291. Suppl. 33. P. 114.
- Wilske B., Fingerle V., Schulte-Spechtel U. // FEMS immunology and medical microbiology. 2007. Vol. 49. No. 1. P. 13.
- Wodecka B., Leonska A., Skotarczak B. // J. Med. Microbiol. 2010. 59. P. 309.
- Wojciechowska-Koszko I., Maczynska I., Szych Z., Giedrys-Kalemba S. // Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz). 2011. Vol. 59. No. 1. P. 69.
- Wong S. J., Brady G. S., Dumler J. S. // J. Clin. Microbiol. 1997. Vol. 35. P. 2198.
- Wormser G. P., Carbonaro C., Miller S. et al. // Clin. Infect. Dis. 2000. Vol. 30. No. 3. P. 545.
- Wormser G. P., Bittker S., Cooper D. et al. // J. Infect. Dis. 2001. Vol. 184. P. 1070.
- Wormser G. P., Dattwyler R. J., Shapiro E. D. et al. // Clin. Infect. Dis. 2006. Vol. 43. P. 1089 (IV).
- Wormser G. P., Nowakowski J., Nadelman R. B. et al. // Clin. Vaccine Immunol. 2008. Vol. 15. No. 10. P. 1519.
- Wormser G. P., Schriefer M., Aguero-Rosenfeld M.E. et al. // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2013. Vol. 75. No. 1. P. 9.
- Xu R., Gan X., Fang Y. et al. // Anal. Biochem. 2007. www.sciencedirect.com
- Yamamoto Y. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002. Vol. 9. P. 503.
- Yang Y., Wang J., Wen H., Liu H. // J. Biomed. Biotechnol. 2012. P. 831052.
- Yoshii K., Hayasaka D., Goto A. et al. // J. Virol. Meth. 2003. Vol. 108. No. 2. P. 171.
- Yu X. J., Crocquet-Valdes P., Cullman L. C. et al. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. No. 8. P. 2568.
- Yu X. J., Crocquet-Valdes P., Cullman L. C., Walker D. H. // J. Clin. Microbiol. 1996. Vol. 34. P. 2853.
- Yu X., McBride J. W., Walker D. H. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 37. P. 1137.
- Yu X., McBride J. W., Zhang X., Walker D. H. // Gene. 2000. Vol. 248. P. 59.
- Zajkowska J., Czczuga A., Grygorczuk S. et al. // Clin. Immunol. 2010. Vol. 16. No. 3–4.
- Zeman P., Jahn P. // J. Med. Microbiol. 2009. 58. P.423.
- Zhang C. X., Mei Q., Zhu Y. et al. // Adv. Nanomaterials and Nanodevices. IUMRS-ICEM 2002, Xi'an, China, 10–14 June 2002. P. 397.
- Zhang J.-R., Hardham J. M., Barbour A. G., Norris S. J. // Cell. 1997. Vol. 89. P. 275.
- Zhi N., Ohashi N., Rikihisa Y. et al. // J. Clin. Microbiol. 1998. Vol. 36. P. 1666.
- Zhi N., Ohashi N., Rikihisa Y. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 17828.
- Zhioua E., Gern L., Aeschlimann A. et al. // Parasite. 1998. Vol. 5. P. 383.
- Zhu B., Nethery K. A., Kuriakose J. A. et al. // Infect. Immun. 2009. Vol. 77. P. 4243.
- Zhuang Y., Futse J. E., Brown W. C. et al. // Infect. Immun. 2007. Vol. 75. P. 5185.

8. Стратегия и тактика профилактики

8.1. Общие положения

Ежегодно с различными природными очагами инфекций, передающихся иксодовыми клещами, контактируют и подвергаются риску заражения десятки миллионов человек. Меры профилактики этих заболеваний могут быть направлены на создание иммунитета (специфическая профилактика) или на предотвращение нападения клещей путем ограничения их численности в природных очагах, а также использованием средств индивидуальной защиты (неспецифическая профилактика). Подходы и научные обоснования ко всем ныне известным способам специфической и неспецифической профилактики КЭ были не только заложены в первые же годы его изучения на Дальнем Востоке, но тогда сделаны также первые шаги к их практической разработке.

В данном разделе не будут перечислены конкретные препараты, разрешенные в нашей стране для специфической и неспецифической профилактики КЭ и других инфекций, передающихся клещами, а также их достоинства и недостатки. Эту информацию легко найти в интернете или в соответствующих инструктивно-методических документах Роспотребнадзора и его НИИ. Представляется актуальным обсудить некоторые общие результаты профилактики инфекций рассматриваемой группы и ее возможную современную стратегию. При этом изначально важно различать две взаимосвязанные, но далеко не идентичные задачи профилактики природноочаговых зоонозов: а) защита конкретного человека или ограниченной группы людей; б) снижение общего уровня заболеваемости в масштабах страны или крупных административных регионов (Коренберг, 2002, 2002b, 2010). Современные возможности решения второй задачи довольно ограничены. Вместе с тем нельзя забывать, что в естественных экосистемах все паразиты выполняют определенную биоценотическую функцию и, в частности, представляют собой постоянно действующие факторы естественного отбора (Шмальгаузен, 1968; Сергиев, 2003). Микроорганизмы, включая возбудителей заболеваний, ин-

тегрируя фрагменты своего генома в геном хозяев, выполняют важную роль в их эволюции (Воронцов, 1975; Сергиев, 2003; Сергиев, Филатов, 2006). Поэтому современная стратегия профилактики природноочаговых заболеваний должна в конечном счете сводиться не к элиминации возбудителей, а к сохранению их роли в экосистеме **при безусловной защите людей от заражений** (Коренберг, 1983, 2000, 2002b). Наиболее рациональную тактику применения различных профилактических средств в конкретном регионе выбирают исходя из местной специфики эпидемиологии комплекса инфекций, связанных с клещами, особенностей пространственного распределения природных очагов, а также степени регулярности заражения людей на той или иной территории с учетом контингентов наибольшего риска (Коренберг, 2002).

8.2. Специфическая профилактика

8.2.1. Вакцинация

Широко распространено мнение, основанное, по всей видимости, на достижениях специфической профилактики антропонозов (Сергиев и др., 2003), что единственный надежный способ профилактики природноочаговых заболеваний — вакцинация. Эта мера дает наибольший эпидемический эффект в том случае, если однократное введение препарата приводит к возникновению у пациента многолетнего и стойкого протективного иммунитета. При большинстве зоонозов даже после контакта человека с возбудителем в природном очаге, закончившемся заболеванием, уровень протективных антител довольно быстро снижается или они вообще утрачиваются (разделы 2.7; 3.7). Это объясняется отсутствием коадаптации организма человека и возбудителей природноочаговых инфекций. Описаны повторные заболевания хантавирусными инфекциями, клещевым энцефалитом, аргасовым и иксодовым клещевым боррелиозом. Каким бы путем ни создавались вакцины, трудно рассчитывать на появление препаратов, которые будут длительно защищать от этих и других природноочаговых заболеваний (Коренберг, 2000; 2000b; Ананьина, Коренберг, 2002). Исключения немногочисленны, и они подтверждают высказанные соображения. После переболевания туляремией, например, очень долго сохраняются протективные антитела; созданная вакцина также длительно защищает от возможного заболевания, что предопределяет успех ее широкого применения.

Как и при естественной иммунизации (разделы 2.7; 3.7), после вакцинации против КЭ титры протективных антител постепенно снижаются с разной скоростью, зависящей от характера антигена, его дозы и индивидуальных особенностей иммунной системы человека. Именно трудности достижения начального уровня антител, достаточного для защиты от заражения и длительного поддержания такого уровня — это ключевая проблема вакцинопрофилактики

КЭ, определяющая ее иммунологическую и эпидемиологическую эффективность. Отсутствие длительного протективного иммунитета после вакцинации вынуждает прибегать к частым ревакцинациям. Например, для поддержания иммунитета против вируса КЭ необходима ревакцинация максимум через каждые 2–3 года. Следовательно, жителю эндемичной зоны только против этого заболевания вакцину нужно вводить на протяжении жизни примерно 20 раз, не пропуская при этом точные сроки ревакцинации. Это само по себе мало реально и, кроме того, не может оставаться безвредным для иммунной системы человека, что вообще не принимают во внимание сторонники массовой вакцинации (Коренберг, 2002b). Поэтому нельзя не согласиться с тем, что «требуется доработки важный вопрос о том, сколько раз можно повторно ревакцинировать без вреда для здоровья» (Лашкевич, Карганова, 2007). Открытым остается вопрос и о том, какова вероятность перехода возбудителя к длительной персистенции в организме пациента вследствие воздействия на него неэлиминирующей или не полностью элиминирующей концентрации антител (Коренберг, 2002b), который приобрел практическую актуальность после выделения вируса КЭ из крови вакцинированных, но заболевших пациентов (Кветкова, 1965). К тому же один клещ, как правило, содержит несколько различных возбудителей, и после его укуса человек рискует заразиться несколькими возбудителями в отдельности или заболеть микст-инфекцией (раздел 5.6). Поскольку становятся известны все новые и новые широко распространенные и опасные возбудители, включая передающихся иксодовыми клещами (разделы 1.4; 5), сложно представить количество вакцинных препаратов (даже если гипотетически предположить, что они могут быть созданы), которое должен получать человек, чтобы быть защищенным от всех этих заболеваний. Разумеется, ситуацию в определенной мере «разрядили» бы отсутствующие комбинированные вакцины, применение которых могло бы одновременно защитить от комплекса наиболее распространенных инфекций. Но, принимая во внимание сложности создания даже моновакцин, приемлемых по длительности формируемого ими протективного иммунитета, перспективы создания поливакцин для специфической профилактики природноочаговых инфекций не кажутся оптимистичными.

Вакцинопрофилактика способна повлиять на общий уровень заболеваемости большинством природно-очаговых инфекций лишь в том случае, если привита подавляющая часть населения, подверженного риску заражения. Это означает, что в России каждый эпидсезон иммунными должны быть не менее 25–30 млн человек, проживающих в границах нозоареала, включая городское и сельское население (Воробьева, Коренберг, 1999; Коренберг, 2002b). При необходимости регулярной ревакцинации такая задача в современных условиях в обозримое время представляется совершенно невыполнимой не только по финансовым (Письма Роспотребнадзора № 01/14820-1-32 от 23.11.2011 и № 01/2000-13-32 от 22.02.2012), кадровым и организационным причинам, но и в связи с колоссальной территорией нашей страны, низкой плотностью населения во многих регионах, удаленностью населен-

ных пунктов и плохой элементарной дорожной связью между ними. Уже только по этим причинам пример Австрии, который обычно приводят сторонники массовой вакцинации против КЭ (Онищенко, 2000; Романенко и др., 2006; Воробьева и др., 2007 и др.), где она была начата в 1981 г., а охват населения прививками достиг 90 % к 2004 г. (т.е. через 24 года!), что привело к устойчивому снижению заболеваемости при эпидемиологической эффективности вакцинации 96,0–98,7 % (Kunz, 2003; Heinz, Kunz, 2004; Хайнц и др., 2008; Süss, 2011; Heinz et al., 2013), не выглядит корректным. По сравнению с Россией Австрия — небольшая страна. Ее общая площадь (83,9 тыс. кв. км) почти в 2 раза меньше чем, например, только одного Пермского края, и в 3,8 раза меньше территории Томской области, а плотность населения (96 человек на 1 кв. км) по сравнению с Пермским краем — в 17,6 раза и с Томской областью — в 28,2 раза больше. Густая сеть автомобильных дорог и транспорта позволяет каждому человеку быстро получить прививку. Эти соображения в значительной мере подтверждаются историей вакцинопрофилактики КЭ в нашей стране.

Первая вакцина против КЭ представляла собой инактивированную формалином суспензию мозга белых мышей, зараженных вирусом КЭ. В 1940 г. в эпидопыте на Дальнем Востоке такой вакциной было привито 1527 человек, из которых заболели двое (0,13 %). В 1940–1942 гг. там же вакцинировано около 19 тыс. военнослужащих; заболеваемость среди них оказалась в 13,5 раз ниже, чем среди непривитых. Среди гражданского населения до 1948 г., когда были вакцинированы всего 1561 человек, прививки проводились только в Приморском крае. В следующем году прибавились Хабаровский край и Ленинградская область; в общей сложности было иммунизировано около 12 тыс. человек. С начала 50-х годов количество прививаемых ежегодно увеличивалось, и в 1956 г. было вакцинировано в общей сложности около 373 тыс. человек, главным образом профессионально связанных с лесом. Заболеваемость среди привитых обычно снижалась в 8–10 раз. Инактивированная мозговая вакцина, несмотря на ее относительно высокую реактогенность, особенно для детей, применялась вплоть до 1958 г., когда было вакцинировано всего около 100 тыс. человек (Львов, Гагарина, 1965). При таком небольшом объеме вакцинопрофилактики она не оказывала сколько-нибудь заметного воздействия на уровень заболеваемости в стране (Иванова, 1969). Уже в этот период было установлено, что около 10 % прививаемых взрослых людей оказываются иммунологически рефрактерными (Лекович, 1945).

В разделе 2.1 упомянуто, что в 1961–1964 гг. под руководством М. П. Чумакова в Кемеровской области в контролируемом эпидемиологическом опыте были проведены широкие испытания культуральной вакцины против КЭ. Эта вакцина при более низкой реактогенности обладала более высокой эффективностью по сравнению с мозговой формолвакциной. После первичного курса иммунизации, предусматривавшего трехкратную прививку с недельным и двухнедельным интервалами между инъекциями, а также ревакцинацию через 4–6 месяцев, эпидемиологическая эффективность применения вакцины в этом эпидопыте составила 85–94 %. Затем на протяжении 3–4 лет пациента ежегодно следовало ре-

вакцинировать, после чего ревакцинацию нужно было проводить через каждые 3 года. После отдаленных ревакцинаций эффективность иммунизации доходила до 94–97%. В результате массовой иммунизации населения заболеваемость по области в целом снизилась в 4–5 раз, а в группе сельских районов с наибольшим охватом населения прививками — в 17–62 раза. Наблюдения по иммуногенности, реактогенности и эпидемиологической эффективности культуральной вакцины, которые в целом подтвердили выводы ее разработчиков, проводились также в пяти других областях РСФСР. Начиная с 1964 г. был осуществлен повсеместный переход на применение только культуральной инактивированной вакцины. Именно в это время сложилось мнение, что вакцинация против КЭ должна быть ведущим противоэпидемическим мероприятием среди сельского населения эндемичных районов, причем иммунизацией рекомендовалось охватывать все население, включая детей с 4 лет, а в населенных пунктах городского типа — также все население, кроме детей (Львов, Гагарина, 1965). Эпидопыт показал, что высокая эпидемиологическая эффективность вакцинации против КЭ в масштабах крупной административной территории в принципе может быть достигнута только при охвате прививками не менее 90% населения (Гольдфарб и др., 1970). Между тем ежегодно во всех областях прививалось не более 2,4 млн человек, причем значительная часть из них в дальнейшем не ревакцинировалась. К концу 1967 г. в целом по РСФСР число правильно привитых составляло только 2 млн или около 10% нуждавшихся в то время в защите (Иванова, 1969). В дальнейшем сохранялась аналогичная ситуация, хотя была разработана и вошла в практику значительно более иммунологически эффективная инактивированная культуральная концентрированная очищенная вакцина (М. П. Чумаков, Л. Б. Эльберт). Поэтому и в эти годы вакцинация не оказывала заметного влияния на показатели заболеваемости в стране в целом.

В настоящее время в России зарегистрированы 6 различных взаимозаменяемых вакцин против КЭ (Holzmann et al., 1992; Воробьева и др., 1997; Холдман и др., 2003; Орлингер и др., 2011). Из-за недостаточного объема производства и по ряду финансово-организационных причин в целом в России за последние 16 лет прививки (в сумме с ревакцинируемыми) ежегодно получали максимум немногим более 3 млн человек в год (рис. 8.1), что составляет примерно 6% общего числа людей, рискующих заболеть КЭ. «Иммунная прослойка населения страны, сформированная за счет вакцинации и ревакцинации против КЭ в 2009–2011 гг., составила 5,8%» (Письмо Роспотребнадзора от 22.02.2012 № 01/2000-13-32). Расчеты, выполненные на основе регрессионной модели, показали, что для достижения уровня заболеваемости 0,5–0,7 на 100 тыс. населения в одном только Пермском крае необходимо ежегодно делать до 400 тыс. профилактических прививок (Девятков, Горбань, 2005). Нужно также учитывать, что вакцина защищает от заболевания далеко не всех, получивших ее. Существует, однако, широко распространенное среди клиницистов мнение, что вакцинированные, даже если заболевают, то в ЛЕГКОЙ, чаще лихорадочной форме, без тяжелых поражений нервной системы. Довольно полный пере-

чень публикаций, содержащих такую констатацию, приведен в монографии А. П. Иерусалимского (2001, С. 247), включающий и работы опытных и известных клиницистов (П. С. Бабкин, В. М. Кантер, К. Г. Уманский), которые отмечали «... что по их данным клиническое течение КЭ у привитых ничем существенно не отличается от заболеваний у непривитых». Сам А. П. Иерусалимский констатировал, что у вакцинированных «были среди заболевших и очень легко протекавшие лихорадочные формы, были и очень тяжелые менингоэнцефалитические формы» (С. 248). В этой связи нужно принимать во внимание, что обычно и среди непривитых легких лихорадочных форм КЭ повсеместно всегда бывает больше, чем тяжелых (раздел 2.6), а серьезный сравнительный анализ методами доказательной медицины соотношения клинических форм заболевания среди вакцинированных и невакцинированных пока не проведен. Как подчеркнул В. И. Вотяков с соавторами (2002, С. 387), ссылаясь на данные Г. Н. Леоновой (1997), «...на протяжении последних 30 лет ни одна из применявшихся вакцин в Приморском крае, где циркулирует высоко нейротропный дальневосточный вирус... не могла предотвратить у привитых ни летальности, ни инвалидизации, ни развития очаговых форм». По официальным данным среди зарегистрированных в РФ больных КЭ в 2006 г. 11 %, а в 2007 г. — 5,8 % (в отдельных регионах — до 25 %) были вакцинированы (Онищенко и др., 2007). Даже при реализации хорошо организованной и контролируемой (Романенко и др., 2007) специальной программы массовой иммунизации населения Свердловской области против КЭ в разные годы (2001–2006) заболели от 18 до 32 % привитых. Это может объясняться разными причинами, выявление которых в каждом конкретном случае заслуживает особого внимания.

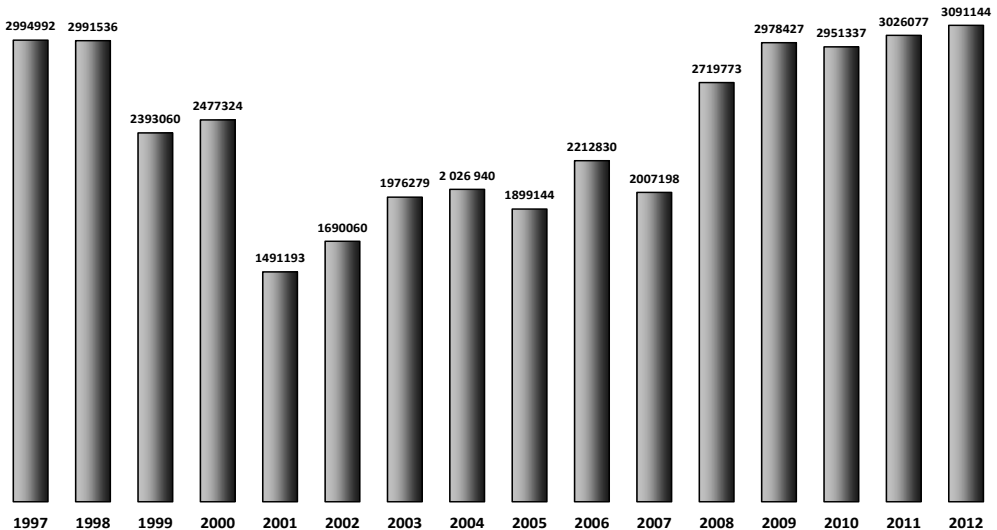


Рис. 8.1. Охват прививками против КЭ населения России в 1997–2012 гг. по официальным данным Роспотребнадзора РФ (первичный курс и ревакцинация в сумме).

Тем не менее вакцинация — это важное средство специфической профилактики КЭ как средство защиты конкретного человека или ограниченной группы людей, особенно среди профессиональных или иных групп населения, подверженных повышенному риску заражения в связи с регулярным пребыванием на очаговой территории. Хотя, несомненно, и в России существует выраженная обратная связь между объемом иммунизации против КЭ и уровнем заболеваемости (Девятков и др., 1997; Романенко и др., 2007), совокупность изложенных фактов и соображений не позволяет согласиться с тем, что «...специфическая вакцинопрофилактика — самая надежная защита от заболевания клещевым энцефалитом» (Леонова и др., 2006, С. 93), а «...массовая иммунизация населения... является ведущим направлением в профилактике КЭ...» (Романенко и др., 2007, С. 24), и «...проблема снижения заболеваемости КЭ в России должна решаться максимальным и ежегодным увеличением охвата... прививками...» (Воробьева и др., 2007). В двух последних приведенных цитатах отсутствуют важные слова их авторов, которые, казалось бы, указывают на показания к проведению массовой вакцинации и в какой-то мере ограничивают охват населения прививками. В первом случае говорится о «...профилактике КЭ на высокоэндемичных территориях», а во втором — о населении территорий «...с наиболее высоким уровнем заболеваемости». Вопрос, однако, заключается в том, какие конкретно территории следует считать высокоэндемичными, по каким критериям оценивать уровень заболеваемости и ранжировать их применительно к степени целесообразности массовой вакцинации против КЭ.

Отвечая на этот вопрос, чаще всего оперируют показателями заболеваемости в субъектах РФ и делают вывод о целесообразности максимального наращивания охвата населения прививками в тех из них, где эти показатели ежегодно высоки. Но значительная неравномерность территориального распределения природных очагов с разным лоймопотенциалом, отличия в частоте контакта населения с ними и, как следствие, степень регулярности и интенсивности эпидемического проявления очагов наблюдаются на уровне административных районов любой крупной территории и внутри нозоареала в целом (табл. 2.8). Однако при налаженной регистрации мест заражения людей наиболее четкую картину, характеризующую интенсивность и постоянство проявления заболеваемости КЭ, дают многолетние данные по сельсоветам, приведенные в таблице 8.1. Они дают возможность ранжировать эти территории по возможной эпидемиологической результативности вакцинации населения и четко представлять ее необходимый объем. Оказалось, что даже в небольшой по общей площади Удмуртии (в сравнении с другими субъектами РФ), которая тем не менее всегда занимала одно из ведущих мест в России по уровню заболеваемости КЭ, в первоочередной защите путем массовой вакцинации в начале 70-х годов нуждалось население 25 сельсоветов из 7 различных административных районов. Вместе с тем, в 94 сельских советах на протяжении 10 лет заболевания вообще не регистрировались или были отмечены крайне редко. Чтобы вакцинация привела к ощутимому снижению заболеваемости в республике, в те годы нужно было иммунизировать и регулярно ревакцинировать примерно 190 тыс. человек,

проживающих в 58 сельсоветах на территории более 10 административных районов (Коренберг и др., 1974). Эта работа приведена, разумеется, не в качестве «образца на все случаи жизни», а как попытка, предпринятая в конкретных условиях и на конкретной территории перехода от «тотальной» к эпидемиологически и экономически обоснованной иммунизации против КЭ для достижения ее возможно-го влияния на показатели заболеваемости всего административного региона. С тех пор эпидситуация во всех регионах сильно изменилась, главным образом в связи с появлением множества дачных участков и увеличившимся контактом городских жителей с природными очагами (раздел 2.5.3). Возникла необходимость в эпидемиологическом обосновании групп наибольшего риска заражения «клещевыми» инфекциями среди городского населения (Ястребов, Хазова, 2011), причем в разных городах характеристики таких групп могут отличаться. Только рациональная тактика иммунопрофилактики в регионах, которые дают большую часть случаев этой инфекции, основанная на совершенно конкретных эпидпоказаниях и расчетах, видимо, может в наших современных условиях оказать заметное влияние на уровень заболеваемости КЭ в стране в целом. Но пока трудно назвать такой период или даже год, когда вакцинация населения повлияла на этот показатель.

Таблица 8.1. Образец планирования вакцинации населения и расчета ее возможной эпидемиологической эффективности на примере Удмуртии (Коренберг и др., 1974)

Название сельских советов	Численность населения (округленно)	Общее число случаев клещевого энцефалита за последние 10 лет	Интенсивность заболеваемости (на 10 тыс. человек)	Доля (в %) числа случаев от их общего количества по Удмуртии
Игринский, Чутырский и др.	17900	137	76,5	2,62
Областновский, Нылгинский, Чеканский и др.	14100	104	73,8	1,99
Кежурганский, Лозо-Ворцинский и др.	9500	97	102,1	1,85
Балдеевский, Бежимский, Крымско-Слудский и др.	15100	76	50,3	1,45
Безменшурский, Муркозь-Омгинский	3900	666	169,2	1,26
Сюмсинский, Васькинский и др.	10400	53	51,0	1,01
Всего по данной группе сельсоветов	83200	570	68,5	10,88

Для специфической профилактики ИКБ американскими и европейскими фирмами были разработаны несколько различных вариантов вакцины. Их основной общий недостаток — поствакцинальные побочные эффекты (т.е. реактогенность препаратов) и короткий период сохранения протективных антител, что требует частой (для некоторых препаратов — ежегодной) ревакцинации (Ананьина, Коренберг, 2002). В итоге, как констатируется в недавнем обзоре по проблемам заболеваний группы болезни Лайма, который подготовлен ведущими европейскими и американскими специалистами (Stanek et al., 2012), вакцина для людей против этих инфекций сейчас отсутствует. Средства специфической профилактики МЭЧ и ГАЧ не разработаны.

8.2.2. Серопрофилактика

Принципиальная возможность серопрофилактики (пассивной иммунизации) КЭ была экспериментально показана на лабораторных животных уже в конце 30-х годов (Чумаков, 1940). В наши дни она проводится специфическим иммуноглобулином (препарат готовится на основе плазмы крови человека и содержит антитела к вирусу КЭ) в лечебных целях и для профилактики заболевания после присасывания клеща, а до недавнего времени (см. ниже) и для экстренной профилактики невакцинированных лиц, срочно выезжающих в районы, где имеются природные очаги. Действующее начало препаратов — иммуноглобулины класса G. Применение специфического иммуноглобулина для лечения больных КЭ, по поводу целесообразности которого существуют разные точки зрения, обсуждаться в этом разделе не будет. Заметим только, что по мнению М. С. Воробьевой (2007, С. 33), «при КЭ специфические иммуноглобулины служат практически единственным этиотропным лечебным средством и являются препаратом выбора для лечения, особенно среднетяжелых и тяжелых форм КЭ».

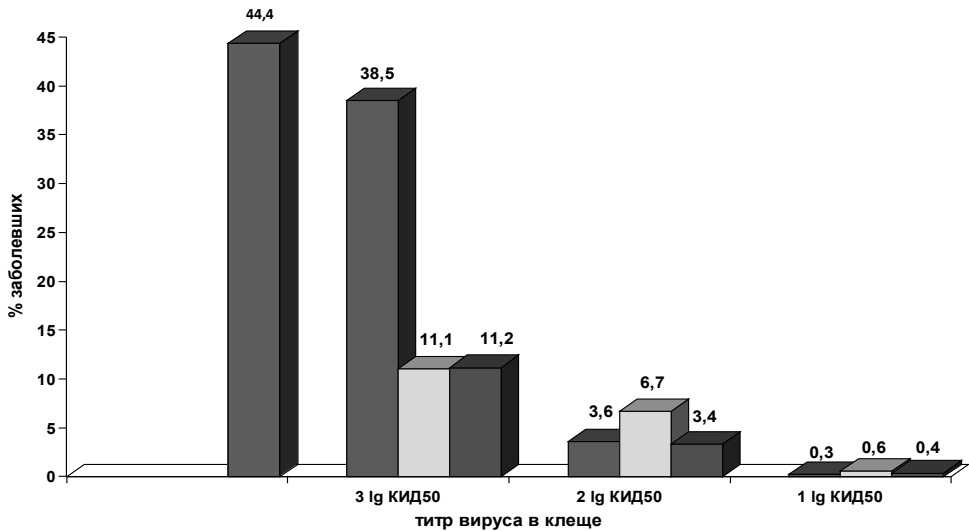
Более 50 лет специфический иммуноглобулин против КЭ применяется для экстренной помощи пострадавшим от укуса клеща с целью предотвращения (постэкспозиционной профилактики) возможного заболевания. Первоначально предлагали использовать иммунную козью сыворотку, причем в Пермской области это делалось около 10 лет с неплохим эпидемиологическим эффектом. С середины 50-х—начала 60-х годов применяли лошадиный гамма-глобулин, введение которого людям, покусанным клещами, в 2–4 раза снижало возможность заболевания, однако у 10–15 % пациентов возникали аллергические реакции на введение этого препарата (Явья, 1959; Пшеничнов и др., 1961).

С 70-х годов применяется только специфический человеческий иммуноглобулин (Верета и др., 1976, 1982). По этому поводу опубликовано множество порой совершенно противоречивых суждений, которые были тщательно и методически абсолютно корректно проанализированы (Пеньевская, 2008, 2010; Пеньевская, Рудаков, 2010). Оказалось, что во многих случаях те или иные заключения авторов публикаций основаны на нерепрезентативных или (и) поверхностно обработанных данных. Главные выводы из проделанного авторами метаанализа достоверных данных состоят в том, что профилактическая эффективность иммуноглобулина зависит от титра вируса в нападшем клеще (см. раздел 2.4.4), что подтверждают многолетние наблюдения И. В. Козловой и др. (2007), и, во-вторых, от титра антител в примененном препарате. При этом низкотитражный иммуноглобулин всегда малоэффективен (рис. 8.2). Между тем разрешенный нижний порог содержания специфических антигемагглютининов в препаратах, выпускаемых отечественными предприятиями, сейчас составляет всего 1:80 (Воробьева и др., 2007). Большая часть продукции имеет именно такую характеристику; чем выше этот титр, тем меньше производится такого иммуноглобулина и тем он дороже. Но уже препараты с титром 1:320 бывают довольно редко. Имен-

но низкий титр специфических антител в отечественных иммуноглобулинах — основная причина неудовлетворительной эффективности их применения как в профилактических, так, видимо, и в лечебных целях (Верета и др., 1994; Воронкова и др., 2005). В этой ситуации серопротекция не только не дает ощутимых положительных результатов, но приносит даже определенный психологический вред, поскольку после введения иммуноглобулина с недостаточно высоким титром антител пациенты считают себя защищенными. Около 20% лиц, заболевших в 1991–1995 гг. в Пермской области, например, получали противоэнцефалитный иммуноглобулин после укуса клеща. Хотя его введение способствовало более легкому клиническому течению заболевания, в целом эффект от профилактического применения этого препарата не обнаружен (Девятков и др., 1997).

С 1993 г. около 15 лет для профилактики КЭ в России с успехом применяли высокоактивный австрийский иммуноглобулин («FSME Bulin»), который имел титр антигемагглютининов не ниже 1:640, а при контроле серий титры составляли от 1:1280 до 1:2560. Этот препарат можно было также применять при необходимости экстренной кратковременной защиты непривитых, поскольку антитела сохранялись в течение 1 месяца (Воробьева и др., 2007).

Как раньше, так и сейчас любому человеку, который обращается в медицинское учреждение за профилактической помощью после укуса клеща, она долж-



Титр антигемагглютинирующих антител в препарате:

■ не вводили ■ 1:20 □ 1:80 ■ 1:160

Рис. 8.2. Эффективность иммуноглобулинопрофилактики КЭ у взрослых при разной инфицированности присосавшихся клещей и титрах антигемагглютинирующих антител в препарате (по Н.А. Пеньевской, 2008).

на быть оказана, причем пострадавший вправе при наличии иммуноглобулина получить его инъекцию без каких-либо дополнительных процедур. Но при этом никогда не существовала «...тактика максимального охвата экстренной серопротективной лиц, укушенных клещами...» (Козлова и др., 2007, С. 28), поскольку, учитывая ежегодное число укушенных, всегда было понятно, что это совершенно нереальная задача. Критикуя такую несуществующую «тактику», эти авторы предлагают «современный» (С. 25) «...новый подход к серопротективной КЭ, заключающийся во введении пациенту иммуноглобулина на основании положительного результата исследования клеща или крови на антиген вируса...» (С. 29). Отсутствие антигена в крови пациента вряд ли может быть надежным показателем для принятия решения о целесообразности введения иммуноглобулина, поскольку в первые–четвертые сутки после укуса клеща за 9 лет наблюдений он был обнаружен только у $21,45 \pm 0,38\%$ проб, причем «концентрация антигена в крови в большинстве случаев (до 70–80% исследованных проб) была невысокой» (С. 27). Что касается введения иммуноглобулина пациентам после получения положительного результата исследования клеща, такая тактика, несомненно, приводит к существенно большей профилактической эффективности серопротективной. В частности, это подтверждают многолетние репрезентативные материалы И. В. Козловой с соавторами (2007, 2009). Этот рациональный подход не выглядит новым. Впервые он был апробирован еще во второй половине 80-х годов (Пеньевская, 1989) в Пермской области, где неизменно продолжал практиковаться (Лузин и др., 1992), и сейчас «стоит на вооружении» Клещевого центра при краевой инфекционной больнице. На этот «Способ профилактики клещевого энцефалита» 15 марта 1989 г. Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий выдал Авторское свидетельство № 1494721. Он давно применяется в Томской области (Жукова и др., 2002) и в ряде других субъектов РФ.

В целом, пассивная иммунизация, оставаясь важным средством индивидуальной защиты от КЭ при использовании специфического иммуноглобулина с высоким титром антител, в связи с его острым недостатком вряд ли оказывала сколько-нибудь заметное влияние на уровень заболеваемости в том или ином регионе в прошлом и способна в сложившейся ситуации повлиять на нее в обозримом будущем. Гибридомный человеческий иммуноглобулин против КЭ (Лашкевич, Карганова, 2007) и этиотропные препараты из группы интерферонов и индукторов интерферонов для профилактики КЭ (Пеньевская, 2010а) пока на стадии перспективных разработок. Методы серопротективной других инфекций, передающихся иксодовыми клещами, которым посвящена данная книга, отсутствуют.

8.3. Предупредительная терапия

Подходы к предупредительной терапии (антибиотикопрофилактике) ИКБ впервые обозначены на международной конференции в середине 90-х годов (Korenberg

et al., 1994), а затем обоснование этого метода было представлено в отечественной и англоязычной научной печати (Коренберг и др., 1996; Воробьева и др., 1996; Korenberg et al. 1996; Воробьева 1998). Строго говоря, этот прием нельзя отнести ни к методам специфической, ни, тем более, неспецифической профилактики в общепринятой трактовке этих понятий, поскольку он заключается в превентивном приеме этиотропного антибиотика при обнаружении боррелий у клеща, прикрепившегося к телу человека. По своей сути он похож на описанный выше способ серологической профилактики КЭ, который предложила Н. А. Пеньевская (1989).

Идея предупреждения ИКБ путем применения антибактериальной терапии антибиотиками после укуса клеща в общей форме неоднократно высказывалась достаточно давно (Benzaia, 1989; Burgdorfer, 1992; Magid et al., 1992; Kuna, Volkman, 1993; Liebisch et al., 1994; Wormser, 1994; Warshafsky et al., 1996). Она основана на общеизвестной чувствительности боррелий к антибиотикам *in vivo* и *in vitro*, а также на том, что антибиотикотерапия боррелиозов тем эффективнее, чем скорее после начала заболевания она начинается (Steere et al., 1983). Однако многие американские врачи сомневались в целесообразности профилактики болезни Лайма антибиотиками даже в случае укуса человека инфицированным клещом (Castell et al., 1989; Diagnosis..., 1991; Shapiro et al., 1992, 1992a; Meek et al., 1994) или рекомендовали проводить ее лишь в тех случаях, когда клещ после присасывания находился на теле более 2 суток (Matuschka, Spielman A., 1993; Sood et al., 1994). На основании некоторых экспериментальных данных (Burgdorfer, 1992; Piesman et al., 1987, 1991; Piesman, 1993) они были убеждены, что риск заражения сразу после укуса человека клещом сравнительно мал, поскольку спирохеты редко присутствуют в слюнных железах голодных инфицированных клещей *I. scapularis* (в те годы — *I. dammini*).

Было показано, что в Евразии, и в частности в очагах, где боррелии передаются клещом *I. persulcatus*, манифестация подавляющего большинства заболеваний и, следовательно, заражения происходят, несмотря на то, что клещ находился на теле человека не более одних суток (Korenberg et al., 1994). Это объясняется генерализованной инфекцией с присутствием возбудителя в слюнных железах у значительной части голодных инфицированных переносчиков и, как следствие, способностью *I. persulcatus* передавать боррелий со слюной сразу после начала процесса питания. По мере насыщения зараженных клещей в первые 2–3 дня не происходит увеличение доли особей со спирохетами в слюнных железах и не нарастает концентрация боррелий в этом органе. В отличие от *I. scapularis*, миграция боррелий из кишечника клеща, начавшего кровососание, в его слюнные железы не является для *I. persulcatus* непрямым или даже важным условием передачи возбудителей ИКБ со слюной (Korenberg et al., 1994; Москвитина и др., 1995, 1995а; Korenberg, Moskvitina, 1996). Оказалось, что генерализованная или системная инфекция (как ее называют в западной литературе) характерна и для голодных зараженных клещей *I. ricinus*.

Изложенные данные об особенностях взаимоотношений боррелий с их основными евразийскими переносчиками позволили применительно к отработке способа профилактики боррелиозов сделать следующие заключения:

— зараженность боррелиями клеща, укусившего человека, может служить главным показанием для назначения процедур, способных предупредить возможность последующего заболевания;

— для поиска боррелий и определения риска заражения следует использовать даже таких клещей, которые находились на теле человека менее суток;

— технически простой, надежный и не требующий больших финансовых затрат способ быстрого выявления боррелий у клещей, начавших кровососание, — важнейшее условие эффективности подобной профилактической работы (Коренберг и др., 1996).

Специальные исследования показали, что прямая микроскопия витальных препаратов позволяет выявить боррелий в кишечнике и слюнных железах клещей в первые дни после начала ими процесса питания. Хотя не все клещи с боррелиями в кишечнике имеют их и в слюнных железах, технически проще и быстрее готовить витальные препараты, содержащие материал из кишечника клеща. Результаты просмотра таких препаратов от клеща, снятого с укушенного им человека, позволяют с большой надежностью судить о риске заражения (Korenberg et al., 1994; Москвитина и др., 1995).

Был проведен и подробно описан эпидопыт (Коренберг и др., 1996), в котором при отсутствии каких-либо противопоказаний врач-инфекционист (Воробьева и др. 1996) назначал пациентам доксициклин (препарат выбора при лечении боррелиоза в дебюте заболевания) для перорального приема по 100 мг 2 раза в день в течение первых 3 или 5 дней после укуса инфицированным клещом. Основная контрольная группа состояла из пациентов, не принимавших антибиотик после укуса инфицированным клещом. Вероятность развития болезни в опытной группе составила 1,1 %, а в контрольной — 12,3 % (рис. 8.3). При подозрении на ИКБ

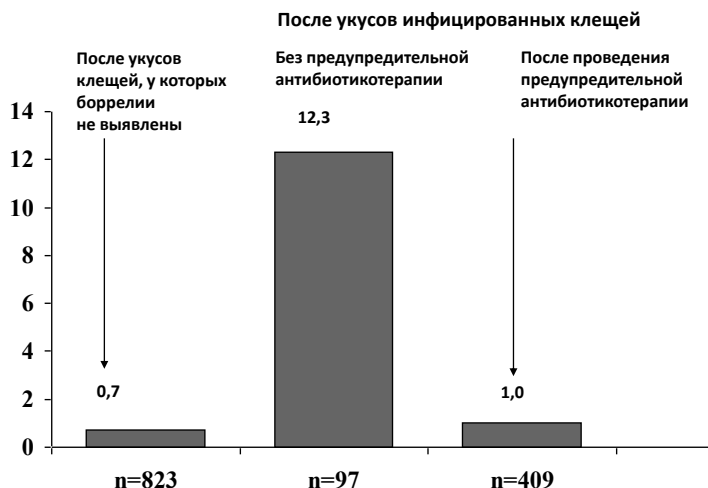


Рис. 8.3. Показатели заболеваемости (на 100 человек) в разных группах эпидопыта по антибиотикопрофилактике ИКБ (по данным Э.И. Коренберга и др., 1996).

пациенты опытной и контрольной групп в большинстве случаев были госпитализированы и длительно находились под клинико-серологическим наблюдением, которое не выявило каких-либо препятствий для дальнейшего распространения такого метода постэкспозиционной профилактики боррелиозных заболеваний (Воробьева и др. 1996). Это позволило рекомендовать его медицинским учреждениям практического здравоохранения (Воробьева и др., 1996а).

В дальнейшем аналогичные или близкие схемы профилактической антибактериальной терапии были с успехом применены в Ленинградской, Пермской, Томской, Иркутской и некоторых других областях (С. С. Козлов, Ю. В. Лобзин, Н. Н. Воробьева, В. Ф. Крумгольц и др.). Кроме доксицилина (вибрамицина), применялись и другие антибиотики: тетрациклин, цефураксим (зиннат, зинацеф), сумамед (азитромицин). Их эффективность при назначении в первые 3 дня после укуса зараженного клеща составляет от 77,7 до 100 %. В последние годы такой способ профилактики боррелиоза стал шире применяться за рубежом, и в частности в США (Nadelman et al., 2001; Warshafsky et al., 2010). Однако данная эффективная мера профилактики ИКБ должна применяться только при наличии соответствующих бактериолого-паразитологических показаний с разрешения и под наблюдением врача. Бесконтрольное (без предварительного исследования присосавшегося клеща) введение антибиотиков всем пострадавшим от нападения переносчика нецелесообразно, поскольку неоправданное употребление антибиотиков может, как известно, оказаться в дальнейшем небезвредным для здоровья (Коренберг и др., 1996, 2007; Коренберг, 2002с).

Поскольку при лечении ГАЧ и МЭЧ, как и при ИКБ, в остром периоде заболевания применяют доксициклин, с большой вероятностью можно предполагать, что превентивная антибиотикотерапия может быть эффективной и для профилактики анаплазмоза и эрлихиоза. Косвенно об этом свидетельствует отсутствие этих заболеваний после подобной профилактики ИКБ, хотя микст-инфекции боррелиозно-анаплазмозной и боррелиозно-эрлихиозной этиологии — это довольно частое явление (раздел 5.6). Даже если это предположение подтвердится, предупредительную терапию, разумеется, нельзя будет считать универсальным способом профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

8.4. Неспецифическая профилактика

8.4.1. Подавление популяций переносчика

Главная цель неспецифической профилактики природно-очаговых инфекций — подавление их паразитарных систем. Как правило, она достигается путем снижения численности, т.е. прямого уничтожения тех или иных видов позвоночных животных — носителей или членистоногих — переносчиков, поскольку «рукотворные» попытки воздействия изменением среды их обитания на сравни-

тельно ограниченной территории обычно не приводят к желаемому даже среднесрочному результату (Korenberg, 1968; Коренберг, 1969).

Накоплен обширный опыт успешного подавления природных очагов КЭ путем истребления основного переносчика на больших площадях препаратами ДДТ и ГХЦГ с помощью авиации (Горчаковская, 1965; Uspensky, 1996). Паразитологическая эффективность первых наземных обработок пестицидами ГХЦГ и ДДТ сравнительно небольших лесных участков доходила в год их проведения до 96–100%. По предложению Е. Н. Левкович началась разработка авиационного способа борьбы с переносчиком КЭ. В 1955–1957 гг. в Томской, Кемеровской и Куйбышевской областях проведены опытные авиаобработки лесов (А. А. Шипова, Ю. И. Гадалин, В. А. Набоков, Н. Н. Горчаковская и др.), которые дали хорошие результаты. Общая площадь наземных и авиаобработок препаратами ДДТ и ГХЦГ с 1347 га в 1954 г. увеличилась до 350 000 га в 1959 г. и 274 000 га в 1960 г. Были отработаны оптимальные сроки проведения истреблений и дозировки пестицидов (А. Д. Гамалеев, Ф. И. Дзюбак и др.). В связи с непродолжительным остаточным действием ГХЦГ предпочтение было отдано ДДТ. С 1958 г. авиационный метод истребления клещей получил в РСФСР широкое распространение и стал ведущим в комплексе мер неспецифической профилактики КЭ. По отношению к взрослым клещам паразитологическая эффективность опытных ранневесенних обработок по снегу дустом ДДТ в первый сезон после их проведения на мало пересеченной местности составила 80–100%, а по отношению к личинкам и нимфам — 70–96%. Эффект однократного истребления клещей в разных условиях сохранялся от 3 до 10 (чаще 5) лет. Эпидемиологическая эффективность этих мероприятий оказалась очень высокой: в Прокопьевском районе Кемеровской области, например, где территория, постоянно посещаемая населением была освобождена от клещей почти на 95,8%, заболеваемость сельских жителей снизилась в 21,4 раза, горожан — в 138,7 раз, а по району в целом — в 27,5–45,5 раз; в Томской области к 1960 г., благодаря истреблению клещей, заболеваемость горожан снизилась в 12 раз; в Татарской АССР на обработанной территории заражения людей не отмечались в течение 6 лет; в Тоугинском районе Новосибирской области за 2 года заболеваемость в зоне обработок сократилась более чем в 2 раза, а по району в целом — на 59,3% (Горчаковская, 1965); в Удмуртской АССР в 1965–1969 гг. авиаобработки всего немногим более 107 тыс. га (около 7% покрытой лесом территории) снизили общее количество случаев в республике в целом почти в 11 раз (Кучерук и др., 1971), причем в административных районах, где были проведены обработки, до 1980 г. отмечались лишь единичные случаи КЭ. С 1963 г. по 1967 г. в РСФСР были подавлены наиболее эпидемически опасные очаги КЭ на площади около 1,3 млн га (с учетом среднего срока действия обработок), причем примерно ее четверть находилась в Кемеровской области (Иванова, 1969), что стало основной причиной периода неуклонного снижения заболеваемости в стране в 1965–1971 гг. (раздел 2.5.4).

Однако эпидемиологическая эффективность мероприятия далеко не всегда увеличивалась пропорционально наращиванию обработанной площади. Несмо-

тря на это, наиболее активно пропагандировавшаяся тактика борьбы с клещами заключалась в барьерно-кольцевой обработке вокруг городов и поселков или наращивании сплошной обработки лесных массивов вплоть до тотальной обработки всех лесов, которые постоянно посещаются населением (Горчаковская, 1965). По существу это было равнозначно необходимости опыления значительной части лесной зоны. Подобная тактика в значительной мере подорвала оптимистические надежды санэпидслужбы на возможность дальнейшего снижения заболеваемости в масштабах страны с помощью истребления клещей и способствовала негативному отношению природоохранных организаций и общественности к этому мероприятию. Оно было эпидемически и экономически оправдано лишь в тех случаях, когда однократная обработка конкретных лесных массивов, занятых природными очагами с высоким эпидемиологическим потенциалом, предотвращала множество заражений, происходивших именно на этой территории и приводила к заметному снижению заболеваемости на протяжении нескольких последующих лет.

На практике по ряду причин обычно удавалось уничтожить клещей не более, чем на 90 %. Экологическая суть их истребления сводилась к тому, что популяции *I. persulcatus*, находившиеся в оптимальных условиях, по уровню численности и пространственному облику становились сходными с популяциями переносчика в пессимальных частях его ареала. Сохранялись предпосылки для существования вялого очага КЭ. Прежние благоприятные для клещей абиотические и биотические условия способствовали постепенному восстановлению численности популяций переносчика и лоймопотенциала природных очагов КЭ в течение 10–15 лет, т.е. через 2–3 полные генерации клещей (Коренберг, 1979; Чунихин, Леонова, 1985). Если изначально достигалась высокая паразитологическая эффективность истребления клещей, последствия обработок могли ощущаться значительно дольше. Так, в Удмуртии в группе упоминавшихся выше административных районов, где проводились обработки, в целом, спустя 30 лет после проведения этих мероприятий, заболеваемость КЭ оказалась в 1,4 раза ниже, чем до обработок, хотя в остальных районах она возросла в среднем в 6–7 раз. По всей видимости, там проявлялись отдаленные последствия истребления клещей, и продолжались процессы восстановления природных очагов (Лихачева и др., 2003).

К концу 70-х–началу 80-х годов объем противоклещевых обработок в очагах КЭ сократился в 10 раз, а затем из-за большой токсичности и кумулятивных свойств ДДТ его применение в соответствии с приказом МЗ СССР (№ 139 от 02.03.1989) прекратилось. Периодически можно слышать мнение о целесообразности возобновления широкого применения пестицидов для борьбы с клещами как наиболее эффективного пути подавления эпидемической активности природных очагов (Шашина, 2007 и др.). В период, когда это практически был единственный способ ощутимого снижения заболеваемости КЭ в стране, такая позиция в какой-то мере была объяснима (Чунихин, Коренберг, 1981). Сегодня она представляется мало реалистичной, поскольку в наши дни отсутствуют не только соответствующие

ющие финансовые возможности, но и стойкие пестициды, не обладающие кумулятивными свойствами. По оценке специалистов, вряд ли можно рассчитывать, что будет найден пестицид, равный по совокупности качеств ДДТ, но не обладающий присущими ему нежелательными свойствами, из-за которых его применение было прекращено (Шашина, 2007). Но даже если бы он был, широкое применение химических методов борьбы с переносчиками в природных или урбанизированных экосистемах, неизбежно приводящее к их нарушению, в большинстве случаев уже просто недопустимо в связи с усиливающейся жизненной необходимостью охраны природы (Коренберг, 2010).

Однако противоклещевая обработка по четким эпидемиологическим показателям ограниченной территории оздоровительных учреждений, воинских частей лесных поселений, садово-огородных и дачных участков (рис. 2.19) в тех случаях, когда она приводит к истреблению или существенному снижению численности клещей и защищает определенную группу людей, — несомненно, остается важным средством профилактики не только КЭ, но и всего комплекса инфекций, передающихся этими членистоногими (Коренберг, 2002b). Для этой цели в России разрешены к применению более десятка различных высокоэффективных по отношению к клещам рода *Ixodes* акарицидных средств. Их общий недостаток — короткий период остаточного действия, который продолжается всего до 1–1,5 мес. (Шашина, 2003, 2007; Шандала и др., 2006). Поэтому однократная обработка не «покрывает» весь период активации клещей, особенно в регионах, где он продолжается долго (раздел 2.5.4), что может требовать нескольких обработок в течение сезона (Метод. указания, 2012). В последние 10 лет (2003–2012 гг.) в общей сложности по всей России такие локальные обработки ежегодно были проведены на площади от 23 887,3 га до 144 045,0 га. В Пермском крае, например, в 2012 г. было обработано 11 118 га, хотя, по мнению пермских специалистов (Девятков, Горбань, 2005), акарицидные обработки достигают порога своего влияния на уровень краевой заболеваемости уже при их годовом суммарном объеме 1150–1200 га. В любом случае совершенно очевидно, что истребление клещей на таких незначительных площадях не может оказать сколько-нибудь заметное влияние на уровень заболеваемости КЭ в стране.

8.4.2. Индивидуальная защита

После укуса одного клеща человек, как правило, рискует заразиться каким-то одним возбудителем («моноинфекция») или заболеть микст-инфекцией (раздел 5.6).

Сейчас профилактика ИКБ в основном (Stanek et al., 2012), а ГАЧ и МЭЧ — исключительно осуществляется путем защиты от укусов клещей. Ее рациональные меры должны одновременно защищать от всего комплекса инфекций, передающихся клещами (Коренберг, 2001, 2002, 2002b, 2003; Козлова и др., 2007), принося при этом минимальный ущерб природе (Коренберг, 1983, 2010; Коренберг, Лихачева, 2003). Этим требованиям удовлетворяют и в обозримое время будут

удовлетворять только современные эффективные меры индивидуальной защиты (Коренберг, 2003; Korenberg, 2003; Шашина, Германт, 2012). К ним не относятся репеллентные средства, поскольку даже лучшие из них при нанесении на кожу отпугивают не более 30 % взрослых таежных клещей, а при нанесении на одежду в реальных условиях — до 60–90 % (Шашина, 2003, 2007).

Еще не так давно необходимость разработки отсутствовавших отечественных эффективных способов и средств массовой индивидуальной защиты, предохраняющих человека от укуса клещей, и следовательно от любой передающейся ими инфекции, выглядела только как актуальная задача (Коренберг, 2002а, 2002b; Шашина, 2002). В наши дни существует около 20 доступных для населения отечественных аэрозольных препаратов на основе пиретроидных соединений, отличающихся стойким акарицидным действием. Они наносятся на одежду и чрезвычайно эффективно препятствуют укусам напавших переносчиков, вызывая у них быстрый паралич и гибель, обеспечивая максимальный уровень защиты от клещей рода *Ixodes* (Шашина, 2007). Изучены этолого-физиологические механизмы такого воздействия этих препаратов на иксодовых клещей и на этой основе отработаны научно обоснованные критерии для испытания и оценки их эффективности (Шашина, 2003, 2007а; Шашина, Германт, 2010).

Специальная одежда различной конструкции и покроя почти всегда входила в перечень средств индивидуальной защиты от клещей (Карпов, Попов, 1956; Горчаковская, 1957; Петрищева, 1957, 1958, 1966; Иванова, 1959а; Шаповал, 1963; Жукова, 1975, и др.), но оставалась мало эффективной. Более 10 лет назад стало очевидно, что для «прорыва» в этом направлении необходимо производство тканей с фабричной пропиткой акарицидами для изготовления специальной защитной одежды и палаток различного назначения (Коренберг, 2002b). Ситуация кардинально изменилась в последние годы, благодаря разработке отечественной технологии импрегнации тканей стойкими акарицидами и их производству. Налажено производство одежды из таких материалов (Компания «Энергоконтракт»), которая прошла полевые испытания в ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора и была одобрена. По свидетельству специалистов института (Шашина, 2012), эта отечественная одежда, получившая название «Биостоп», по защитным и гигиеническим свойствам превосходит лучшие зарубежные аналоги. В 2012 г. начато промышленное производство защитной одежды для детей с 3-х летнего возраста (рис. 8.4). «Комплекты одежды обладают высокими защитными свойствами в отношении клещей-переносчиков, а также в отношении комплекса кровососущих насекомых: достигается практически 100 % защита от клещей и не менее чем 95 % защита от насекомых. Защитные свойства одежды сохраняются в процессе хранения не менее 2 лет и после 50 стирок» (Германт, 2010, С. 72). Таким образом, можно констатировать, что сегодня практически имеется набор высокоэффективных и доступных средств индивидуальной защиты от членистоногих-кровососов. Мировой опыт свидетельствует о результативности их применения для профилактики большинства инфекций,



Рис. 8.4. Одежда «Биостоп», защищающая от клещей и кровососущих насекомых.

1–9 — места расположения «ловушек» для клещей (фотографии предоставлены компанией «Энергоконтракт»).

передающихся членистоногими (Samson et al., 1994). В целом профилактика инфекций, передающихся клещами, станет результативной только тогда, когда для ее осуществления в полной мере будут привлечены усилия и возможности самого населения (Коренберг, 2002b).

8.4.3. Санитарное просвещение и информирование населения

Возможное значение данной меры неспецифической профилактики теоретически (точнее, на словах) обычно признают все, но ее потенциал практически реализуют в очень малой степени. Между тем самый простой и доступный способ предупреждения заражения, рекомендованный еще на заре изучения КЭ — не допускать прикрепления к телу напавших клещей. Это достигается соблюдением довольно простых и многократно описанных правил поведения и ношения обычной одежды в лесу, а также частыми само- и взаимосмотрами для удаления напавших клещей с одежды и тела до того, как они успели присосаться (Павловский, 1947; Карпов, Попов, 1956; Петрищева, 1958 и др.). Это положение было и остается важной элементарной темой целенаправленной санитарно-просветительной работы (Шашина, 2007). В целом она должна быть направлена на разъяснение населению всеми доступными средствами (радио, телевидение, пресса, интернет, листовки, плакаты и т.п.) арсенала средств специфической и неспецифической профилактики инфек-

ций, передающихся иксодовыми клещами, их свойств, преимуществ и недостатков применения, способов защиты от укусов клещей и алгоритма поведения в конкретных местных условиях при обнаружении на теле прикрепившегося клеща. Особенно важное значение приобретает пропаганда употребления современных средств индивидуальной защиты от клещей. Немалое значение в этом отношении может иметь реализация предложения Н. А. Пеньевской и др. (2011) об организации фармацевтического консультирования посетителей аптек. Важно проводить эту работу круглогодично, и особенно интенсивно в конце зимы и ранней весной, до начала эпидемически опасного периода.

8.5. Литература

- Ананьина Ю. В., Коренберг Э. И. // Клещевые боррелиозы. Ижтехносервис. Ижевск, 2002. С. 55.
- Верета Л. А., Захарычева Т. А., Александров В. И. и др. // Ж. невропатол. психиатр. 1994. № 2. С. 68.
- Верета Л. А., Николаева С. П., Михеева Е. И. // Иммуноглобулины и другие препараты крови. Л., 1976. С.37.
- Верета Л. А., Николаева С. П., Михеева Е. И. // ЖМЭИ. 1982. № 2. С.11.
- Воробьева М. С., Коренберг Э. И. // Инфекционные болезни Приамурья. Хабаровск, 1999. С. 68.
- Воробьева М. С., Расценкина М. Н., Ладыженская И. П. // Вопросы вирусологии. 2007. № 6. С. 30.
- Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И., Волегова Г. М. и др. // Мед. паразитол. 1996. № 2. С. 8.
- Воробьева Н. Н., Коренберг Э. И., Волегова Г. М. // Здоровье населения и среда обитания. 1996а. № 5 (38). С. 15.
- Воробьева Н.Н // Клиника, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов. Пермь, 1998. 132 с.
- Воронкова Г. М., Захарычева Т. А., Николаева С. П., Владимиров Т. П. // Иммунотерапия клещевого энцефалита препаратами антител. Библиотека инфекционной патологии. Хабаровск, 2005. Вып. 18. 91 с.
- Воронцов Н. Н. // Природа. № 4. 1975. С. 107.
- Вотьяков В. И., Злобин В. И., Мишаева Н. П. // Клещевые энцефалиты Евразии. Вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции. «Наука». Новосибирск, 2002. 437 с.
- Германт О. М. // II Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням. М., 2010. С. 72.
- Гольдфарб Л. Г., Чумаков М. П., Селютин И. А. и др. // Труды Ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов. 1970. Т. 18. С. 210.
- Горчаковская Н. Н. // Весенне-летний клещевой энцефалит. Медгиз. М., 1957. 40 с.
- Горчаковская Н. Н. // Научный обзор. Вирусы и вирусные заболевания. Вып. 1 (3). Клещевой энцефалит и другие арбовирусные инфекции. М., 1965. С. 128.
- Девятков М. Ю., Горбань Л. Я. // Современная вакцинопрофилактика: проблемы и перспективы развития. Пермь, 2005. С. 40.
- Девятков М. Ю., Лебедева Т. М., Комков Б. Д. и др. // Уральское мед. обозрение. 1997. № 3 (18). С.24.
- Жукова Л. И. // Мед. паразитол. 1975. № 1. С. 45.
- Жукова Н. Г., Команденко Н. И., Подоплека Л. Е. // Клещевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, профилактика, лечение). СТТ. Томск, 2002. 255 с.
- Иванова Л. М. // Клещевой энцефалит и борьба с ним. Медгиз. 1959. 22 с.
- Иванова Л. М. Эпидемиологические особенности клещевого энцефалита в РСФСР. Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. М., 1969. 35 с.
- Иерусалимский А. П. // Клещевой энцефалит. Руководство для врачей. Новосибирск, 2001. 359 с.
- Карпов С. П., Попов В. М. // Клещевой энцефалит и меры борьбы с ним. Томск, 1956. 28 с.
- Кветкова Э. А. // Клещевой энцефалит. Омск, 1965. С. 61.
- Козлова И. В., Злобин В. И., Верхозина М. М. и др. // Вопр. вирусологии 2007. № 6. С. 25.
- Козлова И. В., Злобин В. И., Воробьева М. С., Верхозина М. М. // Экспресс-диагностика и экстренная профилактика иксодовых клещевых инфекций. М., 2009. 214 с.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 1969. Т. 48, вып. 3. С. 356.
- Коренберг Э. И. // Биохорологическая структура вида (на примере таежного клеща). Наука. М., 1979. 171 с.
- Коренберг Э. И. // Что такое природный очаг. Знание. М., 1983. 64 с.
- Коренберг Э. И. // Проблемы биомедицины на рубеже XX1 века. РАЕН. М., 2000. С. 116.

- Коренберг Э. И. // Вестник РАМН. 2001. № 11. С. 41.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. М., 2002. Т. 2. С. 49.
- Коренберг Э. И. // Вестник РАЕН. 2002а. 3. С. 19.
- Коренберг Э. И. // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний. ИТАР-ТАСС. М., 2002b. С. 44.
- Коренберг Э. И. // Частная эпидемиология. М., 2002с. Т. 2. С. 20.
- Коренберг Э. И. // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, № 5. С. 475.
- Коренберг Э. И. // Зоол. журн. 2010. Т. 89, № 1. С. 5.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Москвитина Г. Г. и др. // Мед. паразитол. 1996. № 2. С. 3.
- Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. и др. // Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Методические рекомендации для врачей. Пермь, 2007, 67 с.
- Коренберг Э. И., Кучерук В. В., Панфилова С. С., Шулепова Т. Г. // Мед. паразитол. 1974. Т. 43, № 4. С. 400.
- Коренберг Э. И., Лихачева Т. В. // Эпидемическая обстановка и стратегия борьбы с клещевым энцефалитом на современном этапе. М., 2003. С. 9.
- Кучерук В. В., Коренберг Э. И., Панфилова С. С. и др. // Мед. паразитол. 1971. № 3. С. 275.
- Лашкевич В. А., Карганова Г. Г. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 31.
- Левкович Е. Н. // ЖМЭИ. 1945. № 10. С. 10.
- Леонова Г. Н. // Клещевой энцефалит в Приморском крае. «Дальнаука». Владивосток, 1997. 189 с.
- Леонова Г. Н., Павленко Е. В., Крылова Н. В. // Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита. «Приморский полиграф. комбинат». Владивосток, 2006. 100 с.
- Лихачева Т. В., Коренберг Э. И., Синцова В. С. // Мед. паразитол. 2003. № 3. С. 31
- Лузин П. М., Гусманова А. Г., Наволокин О. В. // Эпидемиология, клиника и профилактика вирусных инфекций. Екатеринбург, 1992. С. 132.
- Львов Д. К., Гагарина А. В. // Научный обзор. Вирусы и вирусные заболевания. Вып. 1 (3). Клещевой энцефалит и другие арбовирусные инфекции. М., 1965. С. 97.
- Методические указания «Неспецифическая профилактика клещевого вирусного энцефалита и иксодовых клещевых боррелиозов». МУ 3.5.3011–12. М., 2012.
- Москвитина Г. Г., Коренберг Э. И., Горбань Л. Я. // Мед. паразитол. 1995. № 3. С. 16.
- Москвитина Г. Г., Коренберг Э. И., Стилман Э. Шеголева Т. В. // Паразитология. 1995а. Т. 29, № 5. С. 353.
- Онищенко Г. Г. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2000. № 4. С. 4.
- Онищенко Г. Г., Федоров Ю. М., Пакскина Н. Д. // Вопр. вирусологии. 2007. № 5. С. 8.
- Орлингер К. К., Хофмейстер И., Фритц Р. и др. // Эпидемиол. и вакцинопрофилактика. 2011. № 5 (60). С. 39.
- Павловский Е. Н. (ред.) // Паразитология Дальнего Востока. Медгиз. Л., 1947. 427 с.
- Пеньевская Н. А. Индикация вируса клещевого энцефалита в присосавшихся переносчиках как основа оценки риска заражения людей и совершенствования тактики экстренной профилактики. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1989. 18 с.
- Пеньевская Н. А. // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. 2008. Т. 10, № 1. С. 70.
- Пеньевская Н. А. // Оценка эффективности этиотропной профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами: проблемы теории и практики. «Омский научный вестник». Омск, 2010. 230 с.
- Пеньевская Н. А. // Эпидемиол. и вакцинопрофилактика. 2010а. С.39.
- Пеньевская Н. А., Рудаков Н. В. // Мед. паразитол. 2010. № 1. С. 53.
- Пеньевская Н. А., Трубина Л. В., Гришин А. В. // Национальные приоритеты России. 2011. № 2 (5). С.47.
- Петрищева П. А. // Не допускать заражения клещевым энцефалитом. Медгиз. М., 19 с.
- Петрищева П. А. // Клещевой энцефалит. Инст. Сан. Просвещ. М., 1958. 78 с.
- Петрищева П. А. // Предупреждение клещевого энцефалита. Медицина. М., 1966. 40 с.
- Пишеничнов А. В., Рубина Г. А., Сатановская Ф. Я. // Тез. докл. межобл. научно-практич. конф. по природноочаг. инфекц. 1961. Тюмень, С.110.
- Романенко В. В., Есюнина М. С., Килячина А. С. // Тр. Ин.-та полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова. 2006. М., Т. 23. С. 120.

- Романенко В. В., Есюнина М. С., Килячина А. С. // *Вопр. вирусологии*. 2007. № 6. С. 22.
- Сергиев В. П. // *Актовая речь* Болезни человека как отражение межвидовой борьбы. Русский врач. М., 2003. 55 с.
- Сергиев В. П., Литвин В. Ю., Диденко Л. В. и др. // *ЖМЭИ*. 2003. № 2. С. 75.
- Сергиев В. П., Филатов Н. Н. // *Инфекционные болезни на рубеже веков. Осознание биологической угрозы*. Наука. М., 2006. 571 с.
- Хайнц Ф., Хольцманн Х., Эсл А., Кундт М. // *Вопр. вирусологии*. 2008. № 2. С. 19.
- Холдман Х., Воробьева М. С., Ладыженская И. П. и др. // *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика*. 2003. 2 (9). С. 37.
- Чумаков М. П. // *Арх. биол. наук*. 1940. Т. 9, № 1–2. С. 104.
- Чунихин С. П., Коренберг Э. И. // *Мед. паразитол.* 1981. Т. 50, № 3. С. 35.
- Чунихин С. П., Леонова Г. Н. // *Экология и географическое распространение арбовирусов*. Медицина. М., 1985. 127 с.
- Шандала М. Г., Шашина Н. И., Германт О. М. // *Дезинфекц. дело*. 2006. № 1. С. 29.
- Шаповал А. Н. // *Клещевой энцефалит*. Медгиз. Л., 1963. 59 с.
- Шашина Н. И. // *Клещевые боррелиозы*. Ижевск, 2002. С. 310.
- Шашина Н. И. // *Дезинфекц. дело*. 2003. № 2. С. 51.
- Шашина Н. И. // *Вопр. вирусологии*. 2007. № 6. С. 36.
- Шашина Н. И. // *Научные основы разработки средств индивидуальной защиты людей от нападения иксодовых клещей — переносчиков возбудителей опасных заболеваний*. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. М., 2007а. 46 с.
- Шашина Н. И., Германт О. М. // *Зоол. журн*. 2010. Т. 89, № 1. С. 115.
- Шашина Н. И., Германт О. М. // *Инфекция и иммунитет*. 2012. Т. 2, № 1–2. С. 214.
- Шмальгаузен И. И. // *Кибернетические вопросы биологии*. Наука. Новосибирск, 224 с.
- Явья А. Р. // *Вопр. вирусол.* 1959. № 6. С. 686.
- Ястребов В. К., Хазова Т. Г. // *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика*. 2011. № 1 (62). С. 19.
- Benzaia D. // *Protect Yourself from Lyme Disease*. Dell Publishing. New York. 1989. 118 p.
- Burgdorfer W. // *First Intern. Conf. on Tick-Borne Path. at the Host-Vector Interface: an Agenda for Research*. Proc. and Abstracts. Saint Paul. 1992. P. 111.
- Castello C. M., Steere A. G., Pincerton R. E., Feder H. M. // *J. Infect. Dis*. 1989. Vol. 159, No. 1. P. 136.
- Diagnosis and Treatment of Lyme Disease. // *Clin. Courier*. 1991. USA. Vol. 9, No. 5. P. 8.
- Heinz F. X., Kunz C. // *Arch. Virol*. 2004. Vol. 18. Suppl. 2004. P. 201.
- Heinz F. X., Stiasny K., Holzmann H. et al. // *EID*. 2013. Vol. 19, 1. P. 69.
- Korenberg E. I. // *WHO/VVC/68.57*. 1968. P. 203.
- Korenberg E. I. // *Inter. J. Med. Microbiol*. 2003. Vol. 293, Suppl. 37. P. 80.
- Korenberg E. I., Moskvitina G. G. // *J. Vector Ecology*. 1996. Vol. 21, No. 2. P. 178.
- Korenberg E. I., Moskvitina G. G. and Vorobyeva N. N. // *Advances in Lyme Borreliosis Research*. Proceedings of the VI International Conference on Lyme borreliosis. Esculapo. Bologna. 1994. P. 209.
- Korenberg E. I., Vorobyeva N. N., Moskvitina H. G., Gorban L. Ya. // *Infection*. 1996. Vol. 24, No. 2. P. 187.
- Kuna E., Volkman D. J. // *Infect. Med*. 1993. June. P. 38.
- Kunz C. // *Vaccine*. 2003. Vol. 21. P. 50.
- Liebisch G., Schmidt M., Liebisch A., Lehmacher W. // *6-th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis*. Program and Abstracts. Bologna. 1994. P. 079W.
- Magid D., Schwartz S. E., Craft J., Schwartz J. S. // *N. Engl. J. Med*. 1992. Vol. 327. P. 534.
- Matuschka F.-R., Spielman A. // *Lancet*. 1993. Vol. 342. P. 529.
- Meek J., Feder H. M., Cartter M. L. // *6-th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis*. Program and Abstracts. Bologna. 1994. P. 012W.
- Nadelman R. B., Nowakowski J., Fish D. et al. // *N. Engl. J. Med*. 2001. Vol. 345. P. 79.
- Piesman J. // *J. Infect. Dis*. 1993. Vol. 167. P. 1082.
- Piesman J., Mather T. N., Synsky R. J., Spielman A. // *J. Clin. Microbiol*. 1987. Vol. 25, No. 3. P. 557.
- Piesman J., Maupin G. O., Campos E. G., Happ Ch. // *J. Infect. Dis*. 1991. Vol. 163. P. 895.
- Samson R. D., McKinney and Gettcliffe G. // *J. Coated Fabrics*. 1994. Vol. 23. P. 244.
- Schapiro E. D., Gerber M. A., Holabird N. B. et al. // *N. Engl. J. Med*. 1992. Vol. 327. P. 1769.
- Schapiro E. D., Gerber M. A., Persing D. et al. // *5-th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis*. Arlington. 1992a. A47. P. 273.

- Sood S. K., Johnson B. J. B., Happ Ch. M.* // 6-th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis. Program and Abstracts. Bologna. 1994. P. 018W.
- Stanek G., Wormser G. P., Gray J., Strle F.* // Lancet. 2012. 379 (9814). P. 461.
- Steere A. G., Hutchinson G. J., Rahn D. W.* et al. // Ann. Intern. Med. 1983. Vol. 99, No. 1. P. 22.
- Stüss J.* // Ticks and Tick-borne Diseases. 2011. 2. P. 2.
- Uspensky I.* // Rev. Med. Vet. Entomol. 1996. Vol. 84, No. 10. P. 679.
- Warshafsky S., Nowakowski J., Nadelman R. B.* et al. // J. Gen. Intern. Med. 1996. Vol. 11. P. 329.
- Warshafsky S., Lee D. H., Francois L. K.* et al. // J. Antimicrob. Chemother. 2010. Vol. 65. P. 1137.
- Wormser G. P.* // 6-th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis. Program and Abstracts. Bologna. 1994. P. 1002W.

9. Заключение

Общая ситуация по природноочаговым инфекциям, и в частности по тем из них, которые передаются иксодовыми клещами, в стране, как и в мире, с годами не упрощается, а усложняется. Это объясняется рядом причин. Наиболее значимые из них — открытие неизвестных ранее патогенных для человека микроорганизмов, существующих в естественных экосистемах, и следовательно новых для науки и здравоохранения природноочаговых инфекций, а также неуклонно усиливающиеся процессы урбанизации, которые интенсифицируют контакты людей с ПРИРОДНЫМИ очагами. В этой связи возникают и постепенно решаются «неожиданные» медицинские проблемы, касающиеся совершенствования клинично-лабораторной диагностики, терапии и диспансеризации природноочаговых заболеваний. Но неизменными остаются задача мониторинга за состоянием природных очагов с целью прогнозирования их возможного эпидемического проявления и проблема перспективного эпидемиологически и экономически обоснованного планирования воздействия на заболеваемость природноочаговыми инфекциями, обеспечивающего снижение ее общего уровня в масштабах страны. Многолетние обсуждения этих задач научным сообществом и практическими работниками убеждают в том, что реальное продвижение в их решении вряд ли возможно на путях прежних, почти не изменившихся на протяжении ряда ДЕСЯТИЛЕТИЙ подходов и стратегических принципов. Поэтому представляется, что настало время вернуться к идее создания единых государственных кадастров природных очагов болезней человека, которая была впервые предложена достаточно давно (Коренберг, Кучерук, 1978; Коренберг, 1979)^{*}, но затем в связи с экономической ситуацией в стране, особенно после 90-х годов, по сути дела даже не обсуждалась.

Кадастр природных очагов — это обязательный для всех государственных органов свод единообразно оформленных данных (по единой методике подготовки кадастровых документов) о природных очагах определенной инфекции (или инвазии), необходимых для оценки их эпидемической опасности (потенциаль-

^{*} Ссылки на публикации, упомянутые в «Заключении» — в разделе 8.5.

ной и реальной) и планирования профилактических и лечебных мероприятий. Предметом оценки должен быть отдельный природный очаг как конкретная пространственно ограниченная паразитарная система. Разработка этой масштабной задачи должна пройти через ряд последовательных и взаимосвязанных этапов, главные из которых, как и содержание унифицированных кадастрово-оценочных тестов, были обозначены для обсуждения. По отношению к КЭ предпринята первая пилотная попытка кадастрово-оценочного описания отдельных природных очагов (Коренберг, 1981).

Ключевыми проблемами эпизоотологии и эпидемиологии инфекций, возбудители которых передаются иксодовыми клещами, как и всех природноочаговых зоонозов (Коренберг, 2010), по-прежнему остаются выявление биоценотических закономерностей существования возбудителей, а также причин, определяющих динамику эпизоотического процесса и эпидемического проявления природных очагов.

Contents

Preface	5
From the authors	8
1. Modern concepts in the natural focality of diseases	16
1.1. Milestones in developing the doctrine	16
1.2. Fundamentals of epizootiology and epidemiology.....	20
1.3. Origin of microbial pathogenicity for humans.....	35
1.4. How «new» infections with natural focality emerge	50
1.5. Importance of tick-borne infections in infectious pathology	52
1.6. References	54
2. Tick-borne encephalitis (TBE).....	61
2.1. Brief historical introduction	61
2.2. The agent.....	67
2.2.1. <i>Taxonomy and general description of the virus</i>	67
2.2.2. <i>Intraspecies diversity</i>	68
2.3. Distribution of natural foci	71
2.4. Epizootiology	78
2.4.1. <i>Reservoir hosts and vectors of the virus</i>	78
2.4.2. <i>Developmental cycle of main vectors and life cycle of the virus</i>	95
2.4.3. <i>Vertical and horizontal transmission of the virus</i>	100
2.4.4. <i>Infection rate and individual infestation of ticks</i>	104

2.4.5. <i>General model of the epizootic process</i>	108
2.4.6. <i>Spatial structure of natural foci</i>	113
2.5. <i>Epidemiology</i>	116
2.5.1. <i>Sources of the agent</i>	116
2.5.2. <i>Mechanism and ways of the agent transmission, and susceptibility of people</i>	118
2.5.3. <i>Causes and intensity of population contacts with natural foci</i>	119
2.5.4. <i>Morbidity</i>	123
<i>Seasonality</i>	124
<i>Annual rate</i>	131
<i>Reasons for «record» peaks</i>	137
2.6. <i>Clinical manifestations</i>	150
2.7. <i>Immunity</i>	155
2.8. <i>Treatment</i>	158
2.9. <i>References</i>	160
3. Ixodid tick-borne borrelioses (ITBB)	174
3.1. <i>Brief historical introduction</i>	174
3.2. <i>The agents</i>	182
3.2.1. <i>Taxonomy and general description of borreliae</i>	182
3.2.2. <i>Species and intraspecies diversity</i>	187
3.3. <i>Distribution of natural foci</i>	195
3.4. <i>Epizootiology</i>	198
3.4.1. <i>Reservoir hosts and vectors of borreliae</i>	198
3.4.2. <i>Life cycle of borreliae</i>	204
3.4.3. <i>Vertical and horizontal transmission of borreliae</i>	206
3.4.4. <i>Infection rate and individual infestation of ticks</i>	208
3.4.5. <i>Features of epizootic process model</i>	210
3.5. <i>Epidemiology</i>	211
3.5.1. <i>Sources of the agent; the mechanism and ways of the agent transmission</i>	211
3.5.2. <i>Susceptibility of people; the causes and intensity of population contacts with natural foci</i>	212
3.5.3. <i>Morbidity</i>	214
<i>Seasonality</i>	214
<i>Annual rate</i>	214
<i>Geographical distribution</i>	217
3.6. <i>Clinical manifestations</i>	219

3.7. Immunity, borreliemia and antigenemia.....	226
3.8. Treatment	230
3.9. References.....	232
4. Human monocytic ehrlichiosis (HME) and human granulocytic anaplasmosis (HGA)	241
4.1. Brief historical introduction.....	241
4.2. The agents	243
4.2.1. Taxonomy	243
4.2.2. Intraspecies diversity	246
4.3. Distribution of natural foci	247
4.4. Epizootiology	247
4.4.1. Reservoir hosts and vectors of ehrlichia and anaplasma pathogenic for humans	247
4.4.2. Horizontal and vertical transmission of HME and HGA agents; infection rate of ticks	249
4.5. Epidemiology	250
4.6. Clinical manifestations of HME and HGA	252
4.7. Immunity and antigenemia	256
4.8. Treatment.....	258
4.9. References.....	260
5. Mixed infections transmitted by ixodid ticks.....	265
5.1. Introduction	265
5.2. Biocenotic fundamentals of mixed infections with natural focality existence	267
5.3. Relationships between agents in mixed-infected ixodid ticks.....	268
5.4. Mixed infection rate of ixodid ticks and their hosts	280
5.5. Spatial relationships of correlated parasitic systems and the dynamics of loimopotential of natural foci.....	283
5.6. Morbidity of mixed tick-borne infections	285
5.7. Clinical manifestations and diagnostics of mixed infections	289
5.8. References.....	298
6. Natural foci monitoring as a basis of epidemiologic surveillance	304

6.1. References.....	312
7. Laboratory diagnostics for infections transmitted by ixodid ticks	314
7.1. Objectives and aims of laboratory diagnostics	314
7.1.1. <i>Problems of laboratory diagnostics for TBE, ITBB, HGA, and HME</i>	<i>315</i>
7.1.2. <i>Diagnostic strategy</i>	<i>316</i>
7.1.3. <i>Standardization</i>	<i>318</i>
<i>Preanalytical stage.....</i>	<i>318</i>
<i>Analytical stage.....</i>	<i>319</i>
<i>Postanalytical stage.....</i>	<i>320</i>
<i>Problems of standardization for TBE, ITBB, HGA, and HME diagnostics.....</i>	<i>322</i>
7.2. Direct detection of the agent.....	323
7.2.1. <i>Microscopy</i>	<i>323</i>
<i>Immunofluorescent microscopy for the detection of TBE virus.....</i>	<i>323</i>
<i>Dark-field microscopy of live bacterial preparations (ITBB).....</i>	<i>324</i>
<i>Microscopy of fixed and stained preparations (ITBB, HGA, HME)</i>	<i>324</i>
<i>Microscopy of histological preparations impregnated with silver (ITBB).....</i>	<i>325</i>
7.2.2. <i>Cultivation</i>	<i>325</i>
<i>Isolation of TBE virus</i>	<i>325</i>
<i>Cultivation of borreliae.....</i>	<i>326</i>
<i>Cultivation of anaplasma and ehrlichia</i>	<i>327</i>
7.2.3. <i>Pros and cons of direct detection methods.....</i>	<i>328</i>
7.3. Serological diagnostics	328
7.3.1. <i>Indirect immunofluorescence assay (IFA).....</i>	<i>329</i>
<i>Tick-borne encephalitis.....</i>	<i>329</i>
<i>Ixodid tick-borne borrelioses</i>	<i>329</i>
<i>Human granulocytic anaplasmosis and monocytic ehrlichiosis</i>	<i>330</i>
7.3.2. <i>Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)</i>	<i>330</i>
<i>Recombinant and peptide antigens.....</i>	<i>332</i>
<i>Sensitivity and specificity of assay</i>	<i>339</i>
<i>Commercial ELISA-based test systems.....</i>	<i>345</i>
7.3.3. <i>Immunoblot</i>	<i>348</i>
<i>Ixodid tick-borne borrelioses</i>	<i>349</i>
<i>Human granulocytic anaplasmosis and monocytic ehrlichiosis</i>	<i>351</i>
7.3.4. <i>Pros and cons of serological tests.....</i>	<i>351</i>

Sensitivity.....	351
Specificity.....	355
Limitations.....	356
Practical usefulness of different serological tests.....	356
7.3.5. Interpretation of serologic diagnostics results.....	359
7.4. Detection of agent-specific antigens and nucleic acids.....	361
7.4.1. Molecular detection methods (PCR).....	361
TBE virus.....	362
<i>B. burgdorferi sensu lato</i>	363
HGA and HME agents.....	364
DNA spectrum of different agents detection.....	365
7.4.2. Detection of TBE virus-specific antigens.....	366
7.4.3. Pros and cons of molecular methods.....	367
7.4.4. Problems interpreting positive results.....	370
7.5. Promising methods of laboratory diagnostics. Multiplexed assays.....	380
7.5.1. Developments in the field of multiplexed assay.....	382
7.5.2. Hardware and methodical equipment of multiplexed assay.....	388
7.5.3. Multiplexed tests for serological and PCR diagnostics of infections with natural focality.....	395
7.5.4. Phosphorescent analysis (PHOSPHAN).....	397
Principle of PHOSPHAN.....	399
Use of PHOSPHAN method for detection of pathogens.....	402
Use of PHOSPHAN method for cDNA fragments detection.....	403
Efficacy of PHOSPHAN method for serological diagnostics of TBE and ITBB.....	403
Use of PHOSPHAN method for detection and differentiation of immunoglobulin G for arboviruses.....	406
Use of PHOSPHAN method for antibody spectrum detection in serological diagnostics of ITBB.....	409
Use of PHOSPHAN method for simultaneous detection of immunoglobulin G to ITBB and TBE agents.....	410
7.5.5. Specific antibody detection in filter paper dried whole blood (or blood serum).....	411
7.6. References.....	415
8. STRATEGY AND TACTICS OF PROPHYLAXIS.....	432

8.1. General considerations	432
8.2. Specific prophylaxis.....	433
8.2.1. <i>Vaccination</i>	433
8.2.2. <i>Seroprophylaxis</i>	440
8.3. Preventive therapy.....	442
8.4. Nonspecific prophylaxis	445
8.4.1. <i>Suppression of vector populations</i>	445
8.4.2. <i>Individual protection</i>	448
8.4.3. <i>Health education and communication</i>	450
8.5. References.....	452
9. CONCLUSION	456

**ПРИРОДНООЧАГОВЫЕ ИНФЕКЦИИ,
ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ**

Формат 70×100 1/16, тираж 500 экз.

Предпечатная подготовка
ООО «Комментарий»
123557, Москва, Электрический пер., 3/10 стр. 1

Ответственный редактор И. А. Жеребкина
Корректор Т. Н. Бергер
Верстка и макетирование А. Е. Простов