

КО-ИНФЕКЦИИ *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHYLUM* С ДРУГИМИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ: ОПИСАНИЕ ТРЕХ ПЕРВЫХ ЛАБОРАТОРНО ВЕРИФИЦИРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Л.А. Анисько^{1,2}, Н.В. Соловей², Т.А. Рогачева¹, И.А. Карпов², В.В. Щерба¹, Н.Н. Юровский¹

¹Городская клиническая инфекционная больница, Минск

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Описываются клинические особенности трех случаев ко-инфекции гранулоцитарного анаплазмоза человека с болезнью Лайма и вирусным клещевым энцефалитом, диагностированных в городской клинической инфекционной больнице г. Минска. Наличие гранулоцитарного анаплазмоза человека следует предполагать во всех случаях инфекций, связанных с присасыванием клеща и диагностированной болезнью Лайма или клещевым энцефалитом при необычной клинической картине последних.

KEYWORDS

human granulocytic anaplasmosis, tick-borne encephalitis, Lyme disease

The clinical features of three cases of co-infection of human granulocytic anaplasmosis with Lyme disease and tick-borne encephalitis virus diagnosed in Clinical Infectious Diseases Hospital in Minsk are described. The presence of human granulocytic anaplasmosis should be suspected in all cases of infections associated with tick bites and Lyme disease diagnosed or tick-borne encephalitis with unusual clinical picture recent cases.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

гранулоцитарный анаплазмоз человека, клещевой энцефалит, болезнь Лайма

Иксодовые клещи могут передавать ряд патогенных микроорганизмов одновременно. Беларусь является эндемичным регионом для болезни Лайма (заболеваемость в 2013 г. – 11,20 случая на 100 тыс. населения) и клещевого энцефалита (1,15 случая на 100 тыс. населения). Реальные показатели заболеваемости гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ) в республике пока неизвестны в связи с ограниченными диагностическими возможностями в большинстве регионов. По разным исследованиям, распространенность *A. phagocytophilum* в клещах *I. ricinus* колеблется от 1 до 20 % [1]. В Беларуси *A. phagocytophilum* была обнаружена в 2,2–4,2 % клещах *Ixodes spp.* [2, 3].

Anaplasma phagocytophilum – грамотрицательная облигатная внутриклеточная бактерия (порядок *Rickettsiales*, семейство *Anaplasmataceae*), которая передается при укусах иксодовых клещей и характеризуется лихорадкой, головной болью, миалгией, лейкопенией, тромбоцитопенией, анемией и гиперферментемией [4]. Сообщения об особенностях протекания клинической картины ГАЧ в виде ко-инфекции с другими клещевыми инфекциями весьма ограничены [5–8]. Рассмотрим три случая ко-инфекции гранулоцитарного анаплазмоза человека с болезнью Лайма (БЛ) и вирусным клещевым энцефалитом (ВКЭ), диагностированных в инфекционном стационаре г. Минска.

Случай 1: ко-инфекция ГАЧ + ВКЭ. Женщина 53 лет поступила в мае 2014 г. в инфекционную боль-

ницу с жалобами на 9-дневную лихорадку, сильную головную боль, слабость, заторможенность. Отмечала присасывание клеща за 8 дней до начала лихорадки. При поступлении температура 38,5 °С, в неврологическом статусе: ригидность затылочных мышц и положительные симптомы Кернига, атаксия и ограничение движения глазных яблок вверх. Пульс – 73 уд/мин, АД – 130/90 мм рт. ст., частота дыхания – 18/мин.

Общий анализ крови: лейкоцитоз – $10,9 \times 10^9/\text{л}$, эритроциты – $3,96 \times 10^{12}/\text{л}$, низкий гемоглобин – 107 г/л, тромбоциты – $374 \times 10^9/\text{л}$; среди лейкоцитов эозинофилы – 1 %, палочкоядерные нейтрофилы – 6 %, сегментоядерные нейтрофилы – 68 %, лимфоциты – 25 %, моноциты – 1 %, ускоренная СОЭ – 45 мм/ч. Исследование цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) при поступлении: бесцветная, прозрачная, белок – 0,79 г/л, глюкоза – 3,3 ммоль/л; цитоз – $396 \times 10^6/\text{л}$, из них: нейтрофилы 16 %, лимфоциты 84 %. Биохимический анализ крови и общий анализ мочи – без особенностей.

Иммуноферментное исследование крови (Вектор Бест, Новосибирск, Россия): ВКЭ IgM, IgG положительны, ЛБ IgM и IgG отрицательны. ПЦР ЦСЖ при поступлении (Вектор Бест, Новосибирск, Россия): КЭ, ЛБ, ГАЧ и МЭЧ отрицательны. ПЦР плазмы КЭ, ЛБ, МЭЧ отрицательны, ГАЧ – ДНК обнаружена.

После проведенного лечения (доксицилин 100 мг 2 раза в день 14 дней) пациентка выписана через 21 день в удовлетворительном состоянии.

Исследование цереброспинальной жидкости перед выпиской: ликвор бесцветный, прозрачный,

белок – 0,33 г/л, цитоз – 59×10^6 /л, лимфоциты – 58×10^6 /л, нейтрофилы – 1×10^6 /л.

Случай 2: ко-инфекция ГАЧ + БЛ. Мужчина 20 лет поступил в июне 2014 г. в инфекционную больницу с жалобами на головную боль, слабость, сонливость, тошноту, повышение температуры в течение 7 дней до $39,0^\circ\text{C}$. Пациент отрицал факт присасывания клеща, однако за 7 дней до начала лихорадки посещал лес.

При поступлении температура $38,5^\circ\text{C}$ с относительной брадикардией – 70 уд/мин, АД – 105/75 мм рт. ст. Частота дыхания – 18/мин. Ригидность затылочных мышц на 1 см, симптомы Кернига отрицательные, в позе Ромберга пошатывается, пальценосовую пробу выполняет с незначительным тремором, слабо выраженный горизонтальный нистагм. Выполнены общий анализ крови, мочи и биохимический анализ крови, которые не выявили каких-либо отклонений.

Исследование ЦСЖ при поступлении: бесцветная, прозрачная, белок – 0,44 г/л, глюкоза – 4,1 ммоль/л; цитоз – 194×10^6 /л, из них: макрофаги 1 %, нейтрофилы 30 %, лимфоциты 69 %.

Иммуноферментное исследование крови: ВКЭ IgM, IgG отрицательны. ПЦР ЦСЖ при поступлении: ВКЭ, ГАЧ, МЭЧ – геном не обнаружен; ЛБ – ДНК выявлена. ПЦР плазмы, ВКЭ, КБ, МЭЧ – геном не обнаружен, ГАЧ – ДНК выявлена.

После курса цефтриаксона 2,0 г/сут внутривенно и доксициклина по 100 мг 2 раза в день перорально в течение 14 дней пациент был выписан в удовлетворительном состоянии. Итоговое исследование ЦСЖ: ликвор бесцветный, прозрачный, белок – 0,41 г/л, глюкоза – 2,6 ммоль/л, цитоз – 28×10^6 /л, лимфоциты 25×10^6 /л, нейтрофилы – 3×10^6 /л.

Случай 3: ко-инфекция ГАЧ + БЛ. Женщина 26 лет поступила в инфекционную больницу в июле 2014 г. с жалобами на головную боль в течение 15 дней, недомогание, онемение правой стороны туловища, слабость и онемение в правых конечностях с участками жгучих болей. Пациентка отрицала факт присасывания клеща, однако на протяжении последних 2 месяцев отмечала ежедневные прогулки в лесопарковой зоне за городом. За 20 дней до госпитализации женщина заметила на правом бедре кольцевидную эритему около 3 см в диаметре. Спустя 5 дней появилась пульсирующая головная боль умеренной интенсивности. Еще спустя 10 дней пациентка заметила слабость, онемение и парестезии в правых конечностях. До поступления в стационар пациентка не обращалась за медицинской помощью и не принимала какие-либо лекарства, кроме анальгетиков. При поступлении повышения температуры не отмечалось, пульс – 76/мин, частота дыхания – 16/мин. На коже правого бедра имелась эритема с просветлением в центре. При неврологическом обследовании были выявлены ригидность затылочных мышц, легкий правосторонний гемипарез и гемигиперестезия со жгучей болью.

Биохимический анализ крови и общий анализ мочи – без особенностей.

Исследование ЦСЖ при поступлении: бесцветная, прозрачная, белок – 0,35 г/л, глюкоза – 2,9 ммоль/л, цитоз – 102×10^6 /л, из них: нейтрофилы 4 %, лимфоциты 96 %.

ИФА ВКЭ, МЭЧ IgM, IgG отрицательный, ГАЧ IgM положительный, IgG отрицательный, БЛ IgM и IgG положительны. ПЦР ЦСЖ и плазмы: БЛ, ВКЭ, ГАЧ, МЭЧ – нуклеиновые кислоты не выявлены. При выполнении МРТ головного мозга обнаружен гиперинтенсивный очаг воспалительного характера в продолговатом мозге (рисунок).

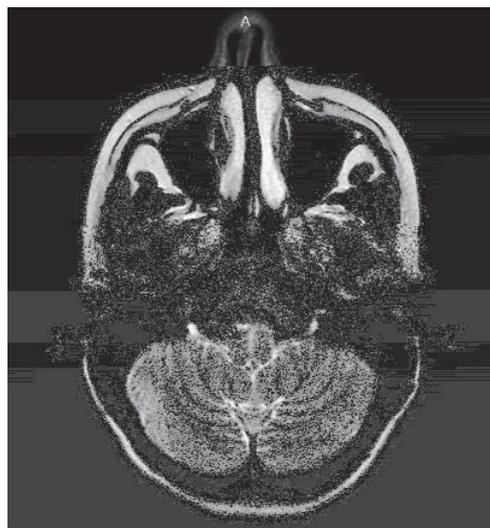


Рисунок. МРТ головного мозга, аксиальный срез, T2-взвешенное изображение. Гиперинтенсивный очаг 10,0×2,5 мм (стрелка) в продолговатом мозге

После проведенного лечения (цефтриаксон 2,0 г/сут внутривенно 21 день и доксициклин по 100 мг 2 раза в день перорально 14 дней) пациентка была выписана с незначительными дистальными парестезиями в правых конечностях. Итоговое исследование ЦСЖ: плеоцитозом 5×10^6 /л (все клетки – лимфоциты), белок – 0,51 г/л, глюкоза – 3,0 ммоль/л. Иммуноферментное исследование крови, взятой спустя 10 дней от первого анализа, выявило антитела класса М и G к ГАЧ. На контрольном МРТ головного мозга, несмотря на значительное клиническое улучшение состояния пациентки, визуализировался тот же воспалительный очаг в продолговатом мозге (в сравнении с предыдущим исследованием). Последующее наблюдение пациентки в динамике в течение 3 месяцев не выявило каких-либо признаков повторного ухудшения состояния.

Обсуждение. Специфическая лабораторная диагностика ГАЧ методом ПЦР в режиме real-time проводится в инфекционной больнице г. Минска с мая 2011 г. Всего за три года исследований

выполнено около 600 анализов биоматериала, в том числе исследовано около 300 образцов ЦСЖ. В течение 2011–2012 гг. все результаты на ДНК ГАЧ были отрицательными. За последние 1,5 года (2013 – 6 мес 2014 г.) на геном анаплазмы исследовано около 360 образцов плазмы и ликвора, обследовано около 180 человек. ДНК ГАЧ выявлены в трех образцах (один ЦСЖ и два плазмы) от разных больных. Иммуноферментный анализ для ГАЧ и МЭЧ был внедрен в нашей больнице только в марте 2014 г., в связи с чем пациентам с отрицательным результатом ПЦР на ДНК ГАЧ серологическое тестирование до этого момента не проводилось.

Существуют различные лабораторные методы подтверждения диагноза ГАЧ. Наиболее распространенными на сегодняшний день являются микроскопический (окраска мазков по Романовскому-Гимза, наибольшая чувствительность в первые семь дней заболевания), молекулярно-биологический (чувствительность 67–90 % в течение первых семи дней после инфицирования) и серологический (чувствительность ИФА является наиболее высокой от двух до четырех недель после начала заболевания) [1, 9]. В приводимом описании два случая ГАЧ подтверждены методом ПЦР в режиме real-time (случай 1 и 2) и один случай с помощью ИФА (случай 3). Продолжительность заболевания до поступления в стационар в случае 1 и 2 была девять и семь дней соответственно, в отличие от случая 3, где продолжительность составила 20 дней. Данный факт объясняет положительные результаты ПЦР-исследований в случаях 1 и 2 наряду с отрицательными результатами ИФА и обратные результаты ПЦР и ИФА в случае 3. Следует отметить, что все описанные случаи ГАЧ в соответствии с критериями Brouqui et al. были определены как вероятные [10].

ВКЭ у пациента в случае 1 был подтвержден лишь серологически, так как ПЦР ЦСЖ имеет ограниченную чувствительность даже в случаях менингита и менингоэнцефалита, вызываемых ВКЭ [11].

БЛ была подтверждена с помощью ПЦР ЦСЖ в случае 2 и серологически в случае 3. Следует отметить, что результаты ИФА на определение IgM и IgG к *Anaplasma phagocytophilum* были отрицательными, несмотря на положительную ПЦР. Аналогичные результаты были описаны в случае Lotric-Furlan et al., где пациент с ко-инфекцией ГАЧ и ранним нейроборрелиозом также не имел антител к *B. burgdorferi*, однако было получено ДНК *Borrelia garinii* из ЦСЖ [8].

В 1-м клиническом случае у пациентки отсутствовали свойственные для ГАЧ клинические проявления и изменения в лабораторных показателях в отличие от аналогичного случая, описанного в Словении [7]. В клинической картине (высокая температура, расстройство координации движений, сильная головная боль, спутанность сознания

и менингит) наблюдались симптомы, характерные для западноевропейского клещевого энцефалита. Следует отметить, что большинство пациентов с ВКЭ имеют двухфазный характер лихорадки, наша пациентка имела монофазный тип лихорадки.

Согласно данным чешских исследователей, клинические проявления ко-инфекции ГАЧ + ВКЭ, кроме длительной лихорадки, существенно не отличаются от проявлений ВКЭ в виде моноинфекции [12]. В связи с этим можно сделать вывод, что ко-инфекция несколькими клещевыми патогенами влияет на типичную клиническую картину каждой соответствующей инфекции.

Пациент во 2-м случае имел ряд клинических проявлений заболевания, нетипичных для ранней диссеминированной формы клещевого боррелиоза. В частности, отмечались высокая лихорадка и миалгии, более типичные для ГАЧ, однако отсутствовали какие-либо патологические отклонения в общем и биохимическом анализах крови.

Пациентка в 3-м клиническом случае имела мигрирующую эритему, сильную головную боль, менингоэнцефалит и сенсорный полиневрит. Однако у нее также отсутствовали лихорадка и отклонения в лабораторных показателях крови, типичные для гранулоцитарного анаплазмоза человека в виде моноинфекции.

Результаты сравнительного исследования Belongia et al. также демонстрируют, что пациенты с ко-инфекцией ГАЧ + БЛ реже отмечают лихорадку, озноб, усталость и чаще имеют нормальные показатели общего и биохимического анализов крови, чем пациенты с моноинфекцией ГАЧ [13]. Аналогичные данные получены в исследовании Horowitz et al., где лейкопения, тромбоцитопения и повышение уровня АЛТ редко встречались у пациентов с ГАЧ + БЛ по сравнению с пациентами с ГАЧ в виде моноинфекции [5]. Тяжелое течение заболевания в 3-ем случае можно объяснить патогенным взаимодействием между *B. burgdorferi* и *A. phagocytophilum*. Экспериментальные данные показывают, что в случае ко-инфекции *B. burgdorferi* и *A. phagocytophilum* увеличивается экспрессия хемокинов, цитокинов и матриксных металлопротеаз эндотелиальными клетками сосудов головного мозга, увеличивается проницаемость гематоэнцефалического барьера и ускоряется проникновение спирохет в структуры центральной нервной системы [14].

Заключение. Данная публикация является первым сообщением о лабораторно верифицированных случаях микст-инфекции ГАЧ с ВКЭ и БЛ в Республике Беларусь. Ко-инфекции, вызванные различными сочетаниями возбудителей клещевых инфекций, могут иметь отличительные клинико-лабораторные признаки и варьируемую тяжесть течения, как показано в вышеописанных случаях. В связи с этим необходимо широко внедрять в лабораторную практику методы

диагностики ГАЧ во всех случаях инфекций, связанных с присасыванием клеща, особенно у пациентов

с нетипично протекающей клинической картиной клещевого энцефалита и Лайм-боррелиоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stuen S., Granquist E.G., Silaghi C. *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3.
2. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus / A.L. Reye [et al.] // *PLoS One.* 2013; 8 (1): E54476.
3. Identification of *Anaplasma phagocytophilum* in tick populations in Estonia, the European part of Russia and Belarus / O. Katargina [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2012; 18 (1): 40–46.
4. Bakken J.S., Dumler S. Human granulocytic anaplasmosis // *Infect. Disease Clin. North America.* 2008; 22 (3): 433–448, viii.
5. Lyme disease and human granulocytic anaplasmosis coinfection: impact of case definition on coinfection rates and illness severity / H.W. Horowitz [et al.] // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2013; 56 (1): 93–99.
6. *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* co-infection / M. Loebermann [et al.] // *Emerging Infectious Diseases.* 2006; 12 (2): 353–355.
7. Concomitant tickborne encephalitis and human granulocytic ehrlichiosis / S. Lotric-Furlan [et al.] // *Emerging Infectious Diseases.* 2005; 11 (3): 485–488.
8. Lotric-Furlan S., Ruzic-Sabljić E., Strle F. Concomitant human granulocytic anaplasmosis and Lyme neuroborreliosis // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2009; 15 (Suppl. 2): 28–29.
9. Bakken J.S., Dumler J.S. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis // *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2006; 1078: 236–247.
10. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe / P. Brouqui [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2004; 10 (12): 1108–1132.
11. The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis / A. Saksida [et al.] // *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology.* 2005; 33 (4): 331–335.
12. Epidemiological survey of tick-borne encephalitis virus and *Anaplasma phagocytophilum* co-infections in patients from regions of the Czech Republic endemic for tick-borne diseases / P. Zeman [et al.] // *Wiener Klinische Wochenschrift.* 2007; 119 (17–18): 538–543.
13. Clinical and epidemiological features of early Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in Wisconsin / E.A. Belongia [et al.] // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America.* 1999; 29 (6): 1472–1477.
14. *Anaplasma phagocytophilum*-*Borrelia burgdorferi* Coinfection Enhances Chemokine, Cytokine, and Matrix Metalloprotease Expression by Human Brain Microvascular Endothelial Cells / D.J. Grab [et al.] // *Clin. Vac. Immunol.* 2007; 14 (11): 1420–1424.

Поступила 24.11.2014