



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **92573**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/48** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 02285**

(22) Дата подання заявки: **06.03.2014**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **26.08.2014**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **26.08.2014, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):

**Малий Василь Пантелейович (UA),  
Шепилєва Наталя Володимирівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ  
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,  
вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

**(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ КЛІЩОВИХ ІНФЕКЦІЙ (ХВОРОБА ЛАЙМА, ГРАНУЛОЦИТАРНИЙ АНАПЛАЗМОЗ І МОНОЦИТАРНИЙ ЕРЛІХІОЗ)**

(57) Реферат:

Спосіб діагностики кліщових інфекцій (хвороба Лайма, гранулоцитарний анаплазмоз і моноцитарний ерліхіоз) здійснюють шляхом дослідження крові. При цьому при діагностиці хвороби Лайма проводять дослідження сироватки крові методом ІФА на імуноглобуліни М і G до збудників моноцитарного ерліхіозу і гранулоцитарного анаплазмозу.

**UA 92573 U**



Корисна модель належить до медицини, а саме до інфекційних хвороб, і може бути використана для діагностики кліщових хвороб, а саме гранулоцитарного анаплазмозу (ГАЛ) і моноцитарного ерліхіозу (МЕЛ).

На сьогодні у світі відомо 18 бактеріальних патогенів, які переносять кліщі: 8 належать до рикетсій, 4 - до борелій, 3 види - до ерліхій та 3 види - до бартонел. За рівнем захворюваності перше місце серед кліщових інфекцій посідає хвороба Лайма (ХЛ), яка лідирує за рівнем захворюваності серед трансмісивних природно-вогнищевих інфекцій як в Україні, так і в більшості країн Європи, Азії та США.

Дослідниками встановлено, що у "чистому" вигляді природні вогнища будь-якої кліщової інфекції - досить умовне поняття. Якщо вони й існують, то, мабуть, як рідкі виключення, тому що як компонент більшості вогнищевих екосистем одночасно входять популяції декількох патогенних і (або) умовно-патогенних мікроорганізмів. У Європі існують асоційовані поліморфні вогнища, в яких циркулює до семи патогенів, що здатні передаватися при укусі іксодовими кліщами. Спірохети *Borrelia burgdorferi sensu lato* і грамнегативні внутрішньоклітинні рикетсієподібні мікроорганізми роду *Anaplasma* spp. є найбільш поширеними кліщовими патогенними мікроорганізмами на території Європи і більш ніж у 10 % випадках захворювань реєструються в мікст-формах з babesіозом і ерліхіозом. За даними досліджень, проведених у Росії, встановлено, що у 84,4 % хворих на ХЛ проходить у вигляді мікст-інфекції з іншими кліщовими інфекціями: кліщовим енцефалітом (КЕ), ГАЛ і МЕЛ).

Резервуаром інфекції в природі, окрім кліщів, є тварини: більше 200 видів хребетних, із них близько 130 - дрібні ссавці, і також 100 видів птахів, міграція яких впливає на розповсюдження інфікованих кліщів у нові регіони.

Зараження людини ХЛ, ГАЛ і МЕЛ відбувається трансмісивним шляхом у випадку укусів інфікованими кліщами.

Змішані інфекції можуть виникнути за рахунок існування одночасно двох і навіть трьох видів борелій, борелій і анаплазм, борелій та ерліхій, бактерій (борелій, анаплазм, ерліхій) і babesій. Вірус КЕ може зустрічатися поряд із кожним із зазначених агентів, за виключенням одночасного існування анаплазм і ерліхій. Як встановлено американськими дослідниками на прикладі борелій і анаплазм, передавання кожного із цих агентів може відбуватися незалежно один від одного, а розбіжності у терміні передавання забезпечують послідовний характер інфікування різними збудниками залежно від тривалості присмокування кліща. Встановлено, що вірус КЕ передається у перші хвилини, борелії - через три чверті доби. Причому у міру тривалості перебування кліща кількість борелій, що передаються зі слиною, збільшується. Babesії передаються не раніше однієї-двох діб після присмокування.

Слід відмітити, що ерліхіози людини вперше виявлені у США в 1987 р., коли почалося їх вивчення, а з 1997 р. окремі випадки захворювання реєструються у багатьох країнах Європи та Азії. У 1998 р. вперше в Росії (в м. Перм) були виявлені серологічно підтверджені випадки захворювання МЕЛ, які виникли після присмокування кліщів. У 1994 р. була встановлена етіологія та клінічна класифікація ГАЛ. У Європі дослідження цієї інфекції було розпочато в 1998 р. у Словенії. Це класичні природно-вогнищеві кліщові облігатно-трансмісивні інфекції, які викликаються внутрішньоклітинними грамнегативними мікроорганізмами роду *Ehrlichia*. Збудник локалізується в цитоплазматичних вакуолях лейкоцитів і викликає у людини гострі гриппоподібні захворювання. За характером спектра уражених кров'яних клітин розрізняють моноцитарний ерліхіоз людини (МЕЛ) (Human Monocytic Ehrlichiosis-HME), збудник - *Ehrlichia chaffeensis* та *E. muris* і гранулоцитарний анаплазмоз людини (ГАЛ) (Human Granulocytic Ehrlichiosis-HGE), збудник - *Anaplasma phagocytophilum*.

Відомий спосіб, при якому визначають клінічні прояви ерліхіозів, які мають широкий спектр: від безсимптомної або субклінічної форми перебігу до перебігу, що загрожує життю і може призвести до летального наслідку. Смертність становить у США 3-5 % при МЕЛ і 7-10 % при ГАЛ, причому наявність грибкових і опортуністичних інфекцій значно частіше призводить до фатального наслідку. Клінічні симптоми МЕЛ і ГАЛ - це лихоманка, нездужання, головний біль, нудота й (або) блювота. Ці та інші клінічні прояви ерліхіозів неспецифічні. З ознобом підвищується температура тіла (до 38-40 °C). При огляді обличчя гіперемійоване, судини склер ін'єковані, у частини хворих можна визначити первинний афект (спочатку у вигляді пухирця, а потім виникає невелика виразка, вкрита кіркою). Висипка відзначається лише у 20 % хворих, вона має макулопапульозний характер, окремі елементи висипки можуть зливатися в еритематозні поля. Печінка та селезінка збільшені, у деяких хворих може бути субіктеричність склер. При дослідженні крові відзначається лейкопенія (у 64 %), анемія (у 57 %), майже у всіх хворих (92 %) виявляється значна тромбоцитопенія, підвищується активність амінотрансфераз (АЛТ, АСТ), а також лужної фосфатази, лактатдегідрогенази.

Враховуючи, що ГАЛ і МЕЛ характеризуються поліморфізмом симптомів, які не мають маніфестно виражених діагностичних особливостей, їх діагностика базується на даних клініко-епідеміологічного обстеження і підтверджується результатами лабораторних досліджень, із яких найбільш інформативними є гемограма, функціональний стан печінки і серологічні методи дослідження - непряма реакція імунофлюорисценції (нРІФ) й імуноферментний аналіз (ІФА) (Афанасьєва М.В. Гранулоцитарний анаплазмоз человека на территории России/ М.В. Афанасьєва, Н.Н. Воробьева, Э.И. Коренберг // Узловые вопросы борьбы с инфекцией. Тез. докл. российская научно-практическая конференция. СПб. - 2004. - С. 14-15).

Таким чином, можна зробити висновки, що проблема асоційованих кліщових інфекцій набула особливої актуальності на сучасному етапі. Донедавна в Україні було широко відомо лише про КЕ і ХЛ, які передаються іксодовими кліщами. Дані про випадки захворювання людей "новими" кліщовими інфекціями, такими як ГАЛ і МЕЛ, у сусідніх нам країнах спонукало нас до початку вивчення цієї проблеми.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики кліщових інфекцій (хвороба Лайма, гранулоцитарний анаплазмоз і моноцитарний ерліхіоз), в якому за рахунок додаткового дослідження, досягається виявлення збудників змішаної інфекції.

Поставлена задача вирішується в способі діагностики кліщових інфекцій (хвороба Лайма, гранулоцитарний анаплазмоз і моноцитарний ерліхіоз), який здійснюють шляхом дослідження крові, в якому, згідно з корисною моделлю, при діагностиці хвороби Лайма проводять дослідження сироватки крові методом ІФА на імуноглобуліни М і G до збудників МЕЛ і ГАЛ.

Можливість передачі кліщами цих інфекцій обумовила необхідність обстеження 96 практично здорових донори методом ІФА. Встановлено, що антитіла до борелій виявлено в 11 % випадків, ГАЛ - в 4 % і в 1 % - до МЕЛ. Причому, біля 2 % випадків була встановлена мікстинфекція - ІКБ+ГАЛ, а в 1 % - ІКБ+ГАЛ+МЕЛ, що свідчить про активність епідпроцесу.

Для визначення антитіл до збудника МЕЛ використовують імуноферментні тест-системи фірми "Омнікс" (м. Санкт-Петербург, Росія), з композицією рекомбінантних білків ерліхій *E. chaffeensis* і *E. muris*. Для визначення антитіл до збудника ГАЛ використовують тест-систему того ж виробника на основі рекомбінантних білків *Anaplasma phagocytophilum*.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень здійснюють за допомогою програми STATISTIKA for Windows (Stat Soft Inc, США) на комп'ютері з процесором Pentium II Celeron 850 PPGA.

Метою нашого дослідження було також встановлення можливості і частоти інфікування асоційованими кліщовими інфекціями (бореліозом, ГАЛ і МЕЛ) осіб, які постраждали від присмоктування кліщів.

Дослідження проводилися протягом 2007-2011 рр. на кафедрі інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти і клінічній базі кафедри - обласній клінічній інфекційній лікарні (ОКІЛ) м. Харкова. Клінічне спостереження й обстеження стаціонарних хворих проводилося у профільних відділеннях ОКІЛ, а також амбулаторно - в Центрі з діагностики і лікування хворих на ХЛ на базі ОКІЛ. Лабораторні дослідження виконувалися в клінічній і біохімічній лабораторіях ОКІЛ, медичних лабораторіях "Аналітика" (ліцензія АВ № 554074 з 20.05.2010 р.), "Синево" (ліцензія АВ № 492597 з 29.10.2009 р.) і "Вірола" (ліцензія АВ №317231 з 19.01.2007 р.).

Із 204 пацієнтів на ХЛ, що спостерігалися нами, чоловіків було 96 (47,1 %), жінок - 108 (52,9 %). В основному переважали особи працездатного віку (74,5 %), решта, 25,5 %, - пенсійного, які ведуть активний спосіб життя і відвідують приміські дачі, зони відпочинку тощо.

При вивченні епідеміологічного анамнезу встановлено, що факт присмоктування кліща підтвердило 176 осіб (86,2 %). Зараження відбувалось у 47,9 % при відвідуванні лісу для відпочинку, збору ягід, грибів, у 20,8 % - при відвідуванні місць відпочинку - парків і лісопарку міста, решта випадків зараження відбулась у сільській місцевості на присадибних ділянках. Самостійно видаляли кліща 88,7 %; 11,7 % осіб звернулись по допомогу в лікувально-профілактичні заклади.

Клінічне обстеження 204 хворих передбачало вивчення скарг, епідеміологічного анамнезу, анамнезу захворювання та життя, об'єктивний огляд пацієнтів, загальноклінічні аналізи крові та сечі в динаміці. При встановленні діагнозу ХЛ орієнтувалися на клініко-патогенетичну класифікацію, розроблену Е. Asbrink і А. Novmark в модифікації В.П. Малого 2006. Період ранньої інфекції було діагностовано у 155 осіб: переважна кількість пацієнтів мала I стадію хвороби - локалізовану - 121 пацієнт (59,3 %), II стадію - рецидивну або дисемінації збудника - 34 пацієнта (16,7 %). Період пізньої інфекції - III стадія (персистуючої інфекції й аутоімунних проявів) була діагностована у 49 (24 %) хворих.

Випадки захворювань на ХЛ у І клінічній стадії реєструвалися з травня по листопад. Причому найбільша їх кількість зареєстрована у травні (25,6 %) і вересні (19,9 %) і 1 випадок (0,8 %) - в листопаді.

Виділяються два піки захворюваності на ХЛ - у травні й вересні, які співпадають з піком активності кліщів. Невідповідність кількості присмоктвань і кількості захворювань обумовлено часом, який займає інкубаційний період, і відстрочене звернення пацієнта до лікаря.

Хворі інфікувалися практично в усіх районах Харківської області. Найчастіше зараження відбувалося при відвідуванні лісів у районах області (57 осіб, 47,1 %). При відвіданні лісопаркових зон у межах Харкова були інфіковані 24 особи (19,8 %). 37 пацієнтів (30,6 %) постраждали від кліща під час роботи або відпочинку на присадибних ділянках. У трьох хворих (2,5 %) інфікування відбулося за межами України під час туристичних поїздок (Білорусь, Польща й Угорщина).

Сироватки крові хворих на ХЛ, у яких було діагностовано І клінічну стадію хвороби, досліджувалися методом ІФА на імуноглобуліни М і G до збудників МЕЛ і ГАЛ. До початку етіотропного лікування було обстежено 96 осіб (табл. 1).

Таблиця 1

Результати тестування сироваток крові пацієнтів з гострим перебігом ХЛ для виявлення специфічних антитіл до збудників МЕЛ і ГАЛ

ІФА	Досліджено сироваток	Із них			
		позитивних		сумнівних	
		абс.	%	абс.	%
МЕЛ - Ig M	96	6	6,25	3	3,13
МЕЛ - Ig G	96	1	1,04	4	4,16
Всього до МЕЛ	96	7	7,3	7	7,3
ГАЛ - Ig M	96	4	4,16	2	2,08
ГАЛ - Ig G	96	2	2,08	2	2,08
Всього до ГАЛ	96	6	6,2	4	4,2

Аналізуючи дані табл. 1 встановлено, що загальний відсоток серопозитивних сироваток крові до збудника МЕЛ становить 14,6 %, а до збудника ГАЛ - 10,4 %. В подальшому, сироватки крові цих 24 пацієнтів з позитивними і сумнівними титрами антитіл досліджувались у динаміці хвороби: до початку етіотропного лікування і перед випискою. Окремо були розглянуті значення титрів для Ig M і Ig G до збудника МЕЛ і ГАЛ, які представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Динаміка титрів антитіл до збудників МЕЛ і ГАЛ

Динаміка титрів	Збільшення титрів		Рівні значення		Зменшення титрів	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
МЕЛ - Ig M (n=14)	1	7,2	-	-	13	92,8
МЕН-Ig G (n=14)	2	14,3	4	28,6	8	57,2
ГАЛ - Ig M (n=10)	2	20,0	2	20,0	6	60,0
ГАЛ - Ig G (n=10)	2	20,0	-	-	8	80,0

Аналізуючи динаміку рівнів специфічних антитіл індивідуально у кожного хворого, ми встановили, що наявність збудника МЕЛ можна діагностувати у 7 осіб, що становить 7,3 % від загальної кількості обстежених, а ГАЛ - у 6 пацієнтів (6,2 %). У решти хворих із сумнівними значеннями результатів серологічних досліджень у динаміці захворювання не було підтверджено наявності інших кліщових інфекцій, крім хвороби Лайма.

Таким чином, застосування методу ІФА дозволило виявити у частини хворих, які перебували під спостереженням (13,5 %), змішану кліщову інфекцію: хворобу Лайма і моноцитарний ерліхоз людини (7,3 %), у 6,2 % - хворобу Лайма і гранулоцитарний анаплазмоз, причому в одному випадку було виявлено антитіла одночасно до трьох збудників кліщових інфекцій (борелії, ерліхії й анаплазми).

Наводимо приклад клінічного спостереження змішаної кліщової інфекції, пов'язаної з інфікуванням пацієнта бореліями і збудником МЕЛ:

Хворий Б., 32 роки 13.05.2010 звернувся на консультацію в Центр з діагностики та лікування бореліозів на базі Обласної клінічної інфекційної лікарні у зв'язку з присмокуванням кліща на передній поверхні нижньої третини правої гомілки. Із анамнезу стало відомо, що 01.05.2010, після відпочинку у лісопарковій зоні міста Харкова пацієнт виявив кліща, якого видалив самостійно у той же день. Відчував себе здоровим. Через 14 днів був обстежений методом ПЛР та ІФА на маркери до *Borrelia burgdorferi* s. 1.: результат негативний. Враховуючи відсутність клінічних проявів (на момент огляду шкіра чиста, вільна від висипання, тільки візуалізувалося місце присмокування кліща), негативні результати аналізів на Ig M і G, пацієнту було рекомендовано диспансерне спостереження із повторними серологічними дослідженнями. Але 17.05.2010 (на 17-й день від укусу кліща) він повторно звернувся на консультацію зі скаргами на загальну слабкість, підвищення температури тіла до 37,6 °С, почервоніння у місці присмокування кліща з досить помірною болючістю. З діагнозом "хвороба Лайма" на 2-й день хвороби був госпіталізований в інфекційний стаціонар зі скаргами, зазначеними вище. При об'єктивному обстеженні у стаціонарі - загальний стан задовільний. У місці присмокування кліща відзначалася макуло-папульозна висипка, яка займала площу 7-9 см, у центрі - первинний афект (у вигляді невеликої виразки). Лімфовузли не збільшені. Слизові оболонки звичайного кольору. В легенях - везикулярне дихання, перкуторно - легеневий звук. Тони серця ритмічні. Пульс - 80 уд. На хвилину. Артеріальний тиск-120/70 мм рт. ст. Язик вологий, з білим нальотом на корені. Живіт м'який, безболісний при пальпації. Печінка нижче краю реберної дуги на 1 см., помірно болюча при пальпації. Фізіологічні відправлення без особливостей.

Загальний аналіз крові від 18.05.10: еритроцити -  $4,36 \times 10^{12}/л$ , гемоглобін - 135 г/л, лейкоцити -  $5,7 \times 10^9/л$ , у тому числі сегм. нейтрофіли - 77 %, лімф. - 17 %, мон. - 6 %, ШЗЕ - 8 мм/год.

Біохімічне дослідження крові від 18.05.10: тимолова проба - 5,5 од., АЛТ - 1,2 ммоль/л. год., лужна фосфатаза - 1,05 ммоль/(год. л).

Дослідження крові на маркери вірусних гепатитів А, В і С від 19.05.10 - результат негативний.

Висновок: УЗД печінки від 20.05.10: паренхіматозна реакція печінки.

При серологічному дослідженні крові методом ІФА від 18.05.10: IgM до *B. burgdorferi* s. 1.: 1,365 (позитивні). Крім того, у пацієнта методом ІФА досліджували кров в динаміці захворювання на антитіла до МЕЛ та ГАЛ. До початку терапії Ig M до збудника ГАЛ - негативні, до збудника МЕЛ - 10,211 (позитивні), які після лікування знизилися до 1,081 (позитивні), Ig G до збудника ГАЛ - негативні, до збудника МЕЛ до початку терапії - 0,927 (сумнівні), після лікування - 1,984 (позитивні).

Після курсу антибактеріальної терапії (доксидиклін по 0,1 г двічі на добу per os протягом 14 днів) спостерігалася покращення стану, еритема нівелювалася. Виписаний з одужанням.

Діагноз: Хвороба Лайма, еритемна форма, легкий перебіг (клініко-анамнестично, серологічно), моноцитарний ерліхіоз людини (клінічно, серологічно).

Таким чином, підсумовуючи вище викладене, можна констатувати, що у Харківській області циркулюють збудники не тільки хвороби Лайма, а й ГАЛ і МЕЛ, що свідчить про активність епідемічного процесу цих інфекцій у досліджуваному регіоні України. Для покращення діагностики асоційованих кліщових інфекцій і проведення своєчасного й адекватного лікування усім особам, які постраждали від присмокування кліщів, доцільно обстежувати сироватку крові на збудники ГАЛ і МЕЛ.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики кліщових інфекцій (хвороба Лайма, гранулоцитарний анаплазмоз і моноцитарний ерліхіоз), який здійснюють шляхом дослідження крові, який **відрізняється** тим, що при діагностиці хвороби Лайма проводять дослідження сироватки крові методом ІФА на імуноглобуліни M і G до збудників моноцитарного ерліхіозу і гранулоцитарного анаплазмозу.

---

Комп'ютерна верстка О. Рябко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601