

СЕРОИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ УРОВНЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *BARTONELLA*

Доц. А. В. БОНДАРЕНКО, канд. мед. наук С. И. ПОХИЛ, Е. Н. ТИМЧЕНКО

*Харьковский национальный медицинский университет,
Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова, Харьков*

Приведены результаты ограниченного серологического исследования клинически здоровых лиц по детекции специфических антител против *Bartonella henselae* и *B. quintana*. Показано, что высокая распространенность антител к бартоanelлам свидетельствует об убикуитарности микроорганизмов и ординарном характере инфицирования.

Ключевые слова: Bartonella henselae, Bartonella quintana, реакция непрямой иммунофлюоресценции, сероиммунологический мониторинг.

Бартоanelлез в последние годы привлекает все большее внимание исследователей многих стран мира, поскольку с возбудителями *Bartonella quintana* и *B. henselae* связан широкий спектр клинических проявлений: траншейная лихорадка, болезнь кошачьей царапины, бациллярный ангиоматоз, бациллярный пелиоз, остеомиелит, хроническая бактериемия, эндокардит, тромбоцитопеническая пурпура и др. Эпидемиологические исследования идентифицировали главные факторы риска приобретения бартоanelлезов. Естественным резервуаром *B. quintana* является человек. *Quintana* передается через инфицированные фекалии платяной вши, втираемые в место укуса хозяином, и обычно ассоциирована с плохими санитарными условиями и низким уровнем жизни. В категорию риска также входят лица с хроническим алкоголизмом, недоеданием, инъекционной наркоманией, что, возможно, обусловлено их тесным контактом с переносчиком, хотя у части лиц отсутствуют данные о контактах с вшами. Резервуаром же для *B. henselae* являются кошки. Передача между кошками происходит трансмиссивным путем с развитием асимптоматичной инфекции, которая приводит к длительной многомесячной бактериемии. Главным фактором заражения человека является травматическая (кошачьи царапины, ослюнение слизистых) инокуляция фекалий кошачьих блох, хотя некоторые пациенты отрицают какие-либо контакты с кошками. Изоляция *B. henselae* от лесных мышей затрагивает вопрос о возможности естественной инфекции у диких грызунов. Кроме того, существует потенциал для трансмиссивной передачи инфекции человеку при укусах блох. В качестве других возможных переносчиков могут выступать иксодовые клещи. Распространение бартоanelлезов обусловлено и ростом иммунодефицитов разного генеза, в том числе ВИЧ-инфекции [1–4].

Наблюдение за циркуляцией различных возбудителей среди населения является обязательным компонентом эпидемиологического надзора, а их результат — основанием для прогнозирования на контролируемой территории. Начиная с 1950-х гг. на территории Украины случаи траншейной лихорадки не регистрируются. Вместе с тем, при серологическом исследовании были получены данные о скрытой циркуляции возбудителя во всех возрастных группах в разных регионах страны [5, 6]. Однако с 2000 г. мониторинг *quintana*-инфекции на территории Украины не проводился, а *henselae*-инфекции не осуществлялся и ранее. При значительном эпидемическом потенциале бартоanelлеза и отсутствии в большинстве случаев типичных клинических признаков лабораторные методы исследования занимают ведущее место в системе эпидемиологического надзора за этой инфекцией.

Целью исследования было изучение в сыворотках крови клинически здоровых людей уровня специфических антител против антигенов возбудителей бартоanelлеза.

Объектом исследования явились 80 образцов сывороток крови клинически здоровых лиц (доноров крови), отобранных в Харьковском областном центре службы крови МЗ Украины. Распределение по половому признаку было следующим: мужчины составили 59% (47 человек), женщины — 41% (33). Возраст обследованных колебался от 20 до 57 лет, средний возраст составил $34,11 \pm 1,24$ с медианой в 32 года.

В образцах исследуемых сывороток методом реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) определяли уровень специфических антител против антигенов возбудителей бартоanelлеза. При этом были использованы коммерческие и экспериментальные препараты диагностических корпускулярных антигенов, имевшие такое происхождение:

антиген *B. quintana* — научно-производственное объединение «Биомед» (г. Пермь, Россия); антиген *B. henselae* — лаборатория новых и малоизученных инфекционных заболеваний Института микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова (г. Харьков, Украина) [7].

Кроме того, при постановке РНИФ применяли антивидовые флуоресцирующие иммуноглобулины сухие против иммуноглобулинов человека, кролика и быка производства филиала «МЕДГА-МАЛ» НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН.

При проведении скрининговых эпидемиологических исследований делали одно разведение 1:4, а в дальнейшем определяли уровень специфических антител (дотитровывали) лишь в тех сыворотках, с которыми в этом разведении РНИФ была положительной.

При визуальном люминесцентно-микроскопическом исследовании препаратов оценивались такие характеристики: люминесценция (цвет, интенсивность специфической флуоресценции), морфологические особенности клеток антигена, подобие люминесцентно-микроскопической картины в нескольких полях зрения. В случае положительной РНИФ, когда исследуемая сыворотка содержит бартофельные антитела, определяется специфическое свечение тридцати — шестидесяти клеток бартофель на темном фоне препарата в одном поле зрения.

Для оценки интенсивности специфической флуоресценции использовали четырехкрестовую систему определений: «++++» — ярко блестящая изумрудно-зеленая флуоресценция периферии, которая четко контрастирует с темным телом микробных клеток; «+++» — умеренно яркая изумрудно-зеленая флуоресценция периферии, которая контрастирует с темным телом микробных клеток; «++» — выраженная флуоресценция, но меньшей интенсивности, морфологические особенности в части бактерий четко не определяются, возможно зеленое свечение всей микробной клетки; «+» — заметное, но не интенсивное свечение неопределенного цвета, морфологические особенности различаются плохо, флуоресценция оказывается по всей клетке или фрагментарно; «-» — свечение не определяется, едва заметны «тени» клеток.

Позитивными считались результаты РНИФ с интенсивностью специфической флуоресценции «++++» и «+++». За титр специфических антител

в исследуемом образце сыворотки принимали ее наибольшее (последнее) разведение, которое обуславливало результат РНИФ, оцененный на «+++». Разведения сыворотки, при которых была выявлена флуоресценция клеток интенсивностью на «++» и «+» не учитывались. При проведении исследований ставили контроли с нормальной сывороткой (проверенной в предыдущих исследованиях на отсутствие противобартофельных антител) и с бартофельной (позитивной) сывороткой человека, включенной в диагностический набор.

Статистическая обработка данных проводилась в соответствии с правилами рядовой и альтернативной вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Statistica (StatSoft Inc. США, версия 6.0).

Результаты определения специфических антител против антигенов возбудителей бартофель в сыворотках крови клинически здоровых людей представлены в таблице.

При проведении статистического анализа влияния полового и возрастного факторов на наличие специфических антител к антигенам бартофель различия установлены не были ($p > 0,05$), хотя несколько больший процент положительных результатов определялся в возрастной категории от 20 до 29 лет (79,4% к *B. quintana* и 67,6% к *B. henselae*). Анамнестический уровень специфических антител к *B. henselae* не превышал 1:16, в то время как к *B. quintana* — 1:32 и в подавляющем большинстве случаев составлял 1:4 к обоим антигенам.

В 47,5% случаев одновременно определялись антитела к антигенам двух возбудителей, что может свидетельствовать о предшествующем контакте с обоими возбудителями. Однако следует заметить, что при проведении серодиагностики инфекционных заболеваний достаточно часто отмечаются случаи перекрестных иммунологических реакций, обусловленных наличием определенного антигенного родства между возбудителями и поликлональным характером корпускулярных диагностикомов, применяемых в современной лабораторной практике. Значительная антигенная кросс-реактивность бартофель затрудняет определение видовой принадлежности специфических антител (особенно в анамнестических титрах).

Изучение в сыворотках крови клинически здоровых людей (доноров крови) уровня специфических антител против антигенов возбудителей

Уровни специфических антител против возбудителей бартофель в сыворотках крови клинически здоровых людей ($n = 80$)

Вид антигена	Титр позитивных антител													
	0		1:4		1:8		1:16		1:32		1:64		Всего	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
<i>B. henselae</i>	35	43,8	31	38,8	13	16,3	1	1,3	0	0	0	0	45	56,3
<i>B. quintana</i>	18	22,5	36	45,0	14	17,5	9	11,3	3	3,8	0	0	62	77,5

бартоanelлеза позволило установить, что чаще всего и в высшем титре во всех возрастных категориях вне зависимости от пола были выявлены антитела против *B. quintana*, что свидетельствует о значительном распространении этой инфекции среди населения и об активном характере эпидемиологического процесса.

Высокая распространенность антител к бартоanelлам подтверждает то, что эти микроорганизмы являются убикуитарными и инфицирование носит ординарный характер. Все механизмы инфицирования до конца не определены. Вероятно, разные факторы способствуют передаче бартоanelл, и в первую очередь, жилищные условия с высокой достоверностью тесного контакта с кошками,

бездомными собаками, возможно, грызунами (являющимися резервуарами инфекции) и их эктопаразитами (блохами, вшами, клещами). Дальнейшее изучение резервуаров и переносчиков бартоanelл несомненно улучшит возможности по профилактике этих заболеваний.

Результаты ограниченного серологического мониторинга уровня специфических антител против возбудителей бартоanelлеза подтвердили необходимость расширения подобных исследований для установления объективного уровня заболеваемости населения в Украине, изучения контингентов с повышенным риском заболевания, а также разработки методов лабораторной диагностики, лечения и профилактики таких больных.

Литература

1. *Bartonella* spp. seroprevalence in healthy Swedish blood donors / S. McGill, L. Wesslen, E. Hjelm et al. // Scand. J. Infect. Dis.— 2005.— Vol. 37.— P. 723–730.
2. Occurrence of *Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* among human immunodeficiency virus-infected patients / M. Pape, P. Kollaras, K. Mandraveli et al. // Ann. NY Acad. Sci.— 2005.— Vol. 1063.— P. 299–301.
3. Seroprevalence of *Bartonella* spp. infection in HIV patients in Catalonia, Spain / I. Pons, I. Sanfeliu, M. M. Nogueras et al. // BMC Infect. Dis.— 2008.— Vol. 8.— P. 58–62.
4. Сероиммунологический мониторинг микроорганизмов родов *Rickettsia* и *Bartonella* в Московском регионе / В. Ф. Игнатович, Е. П. Лукин, Н. С. Умнова и др. // ЖМЭИ.— 2001.— № 1.— P. 14–17.
5. Климчук М. Д., Любінський С. Ю., Кіцара М. С. Серологічні методи діагностики волинської (п'ятиденної) гарячки з антигенами *Rochalimaea quintana* // Acta medica Leopoliensia.— 1997.— № 3–4.— С. 59–62.
6. Проблема волинської гарячки в Україні / М. Д. Климчук, І. І. Курганова, С. Ю. Любінський, М. С. Кіцара // Інфекційні хвороби.— 1999.— № 2.— С. 15–18.
7. Спосіб лабораторної діагностики бартоanelьозної інфекції за допомогою реакції непрямой імунофлюоресценції / С. І. Похил, В. М. Козько, А. В. Бондаренко и др. // Інформаційний бюлетень (додаток до «Журналу Академії медичних наук України»).— 2007.— Вип. 22.— С. 76.

СЕРОІМУНОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ РІВНЯ СПЕЦИФІЧНИХ АНТИТІЛ ПРОТИ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ *BARTONELLA*

А. В. БОНДАРЕНКО, С. І. ПОХИЛ, О. М. ТИМЧЕНКО

Наведено результати обмеженого серологічного дослідження клінічно здорових осіб щодо детекції специфічних антитіл проти *Bartonella henselae* і *B. quintana*. Показано, що висока поширеність антитіл до бартоanelл свідчить про убікуитарність мікроорганізмів та ординарний характер інфікування.

Ключові слова: *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, реакція непрямой імунофлюоресценції, сероиммунологічний моніторинг.

SEROIMMUNOLOGIC MONITORING OF SPECIFIC ANTIBODIES LEVEL AGAINST THE MICROORGANISMS OF *BARTONELLA* GENUS

A. V. BONDARENKO, S. I. POKHIL, E. N. TIMCHENKO

The findings of limited serological investigation of clinically healthy persons at detection of specific antibodies against *Bartonella henselae* and *B. quintana* are presented. It is shown that high prevalence of the antibodies to *Bartonellas* testifies for ubiquitous nature of the microorganisms and ordinary character of the infection.

Key words: *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, indirect immunofluorescence reaction, seroimmunologic monitoring.

Поступила 10.03.2011