

Современные аспекты лейшманиоза

Н. М. Беляева, д.м.н., проф., зав. кафедрой инфекционных болезней¹

И. П. Трякина, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней¹

В. А. Синикин, аспирант¹

Л. С. Карань, к.м.н., научный сотрудник CMD²

О. Б. Муравьев, к.м.н., зав. реанимационным отделением³

Г. Ю. Никитина, к.м.н., зам. гл. врача³

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

²ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

³ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница имени С. П. Боткина» Департамента здравоохранения г. Москвы

Modern aspects of leishmaniasis

N. M. Belyaeva, I. P. Tryakina, V. A. Sinikin, L. S. Karan, O. B. Muravyov, G. Yu. Nikitina

Russian Medical Academy for Postgraduate Continuous Education, Central Scientific and Research Institute for Epidemiology, City Clinical Hospital n.a. S. P. Botkin; Moscow, Russia

Резюме

В статье проанализированы данные литературы, посвященные современным аспектам лейшманиоза. Увеличение случаев лейшманиоза в мире и в России можно связать с развитием туризма, миграцией населения, а также с отсутствием настороженности медицинских специалистов, сложностями диагностики. Представлены клинические наблюдения висцерального лейшманиоза у пациентов инфекционного отделения больницы имени С. П. Боткина. В первом случае заболевание протекало с характерными клиническими симптомами: гепатосplenомегалия, панцитопения, лихорадка. Диагноз был поставлен на основании обнаружения лейшманий в материале костного мозга. Лечение было успешным. Второй пациент был ВИЧ-инфицирован, лейшманиоз в этом случае сочетался с другими оппортунистическими инфекциями с развитием в последующем полиорганной недостаточности, что повлекло летальный исход. В условиях пандемии ВИЧ-инфекции лейшманиоз приобретает еще большую актуальность. В статье подробно представлены сведения по современным методам лабораторной диагностики.

Ключевые слова: кожный лейшманиоз, висцеральный лейшманиоз, ВИЧ-инфекция, пункция костного мозга, методы лабораторной диагностики, лечение.

Summary

The article analyzes the literature data devoted to the modern aspects of leishmaniasis. The increase in the incidence of leishmaniasis in the world and in Russia can be related to the development of tourism, population migration, as well as to the lack of alertness of medical specialists, the difficulties of diagnosis. Clinical observations of visceral leishmaniasis in patients of the infectious department of the hospital named after S. P. Botkin are presented. In the first case, the disease proceeded with characteristic clinical symptoms: hepatosplenomegaly, pancytopenia, fever. The diagnosis was made based on the detection of leishmanias in the bone marrow material. The treatment was successful. The second patient was HIV-infected, leishmaniasis in this case was combined with other opportunistic infections, with the subsequent development of multi-organ failure, which led to a fatal outcome. In the context of a pandemic of HIV-infection, leishmaniasis becomes even more urgent. The article details the information on modern methods of laboratory diagnosis.

Key words: cutaneous leishmaniasis, visceral leishmaniasis, HIV-infection, bone marrow puncture, laboratory diagnostic methods, treatment.

В последние годы увеличилось число публикаций, посвященных лейшманиозу: распространенности, встречаемости в различных регионах, анализу клинических проявлений и осложнений. Авторы связывают увеличение случаев лейшманиоза с развитием туризма, миграцией населения, снижением уровня жизни в эндемичных очагах, а также с отсутствием настороженности медицинских специалистов и сложностями при проведении дифференциальной диагностики заболевания.

Опубликованные документы «Борьба с лейшманиозом» (Женева, 22–26 марта 2010 года) [1, 2], «Биорегиональное совещание по борьбе

с лейшманиозом» (Туркменистан, 18–20 ноября 2014 года), приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 09 ноября 2012 года № 841н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при лейшманиозе (кожная форма)», утвержденный в Минюсте РФ 13.03.2013 [3], являются доказательством определенной тревоги в отношении распространения лейшманиоза в мире.

Цель данной работы — привлечь внимание к этой проблеме инфекционистов, терапевтов, гематологов, хирургов, дерматологов, паразитологов и врачей лабораторной диагностики.

Лейшманиоз — протозойная инфекция с трансмиссивным механизмом передачи внутриклеточных паразитов лейшманий. Заболевание может протекать в виде локализованных диссеминированных форм с поражением кожи, слизистых, висцеральных органов. Вместе с тем наблюдаются и субклинические варианты. Острые формы лейшманиоза длятся около года, хронические больше года.

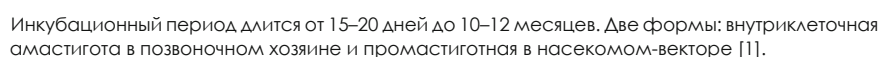
История изучения вопроса

Клиника кожного лейшманиоза описана в старинных античных и китайских рукописях, в Ветхом Завете, то есть за несколько тысячелетий

В 1898 году ординатор Ташкентского военного госпиталя П. Ф. Боровский обнаружил возбудителя лейшманиоза и причислил его к семейству простейших. В 1899–1903 годах английский врач, лейтенант Уильям Буг Лейшман (William Boog Leishman) и ирландский врач-бактериолог Чарлз Донован (Charles Donovan) выявили возбудителя висцерального лейшманиоза, идентичного по описаниям П. Ф. Боровского. В 1905 году В. Прессо (V. Pressot) предположил наличие связи в развитии лейшманиоза с укусами moskitov. В 1908 году Шарль Николь (Charles Nicole) назвал возбудителя «лейшманиями» и доказал, что собаки являлись основным резервуаром возбудителя в Тунисе. В 1921 году Л. Пресс (L. Press) экспериментально доказал, что именно moskity являются переносчиками лейшманиоза. В 1922 году Брамачари (Brahmachari) (Индия) описал кожный и висцеральный лейшманиоз [4, 5, 6].

Возбудителем лейшманиоза являются простейшие *Leishmania*, которые передаются при укусе инфицированных москитов и относятся к типу *Sarcomastigophora*, подтипу *Mastigophora*, классу *Zoomastigophora*, отряду *Kinetoplastida*, семейству *Trypanosomatidae*, роду *Leishmania*.

Лейшмании попадают в организм москита при сосании крови зараженного человека или животного. В желудке насекомого амастиготы превращаются в промастиготы. Через неделю паразиты начинают блокировать просвет пищеварительного канала своими телами и секретируемым гелем. Самка москита испытывает затруднение при глотании, у нее возникают спастические движения, и она срыгивает



К месту укуса москита прибывают полиморфоядерные нейтрофилы, которые фагоцитируют паразитов (внутри них лейшмании не размножаются). При апоптозе нейтрофилы уничтожаются макрофагами.

При кожном лейшманиозе воспалительные инфильтраты образуются в коже и содержат макрофаги, лимфоидные, плазматические клетки.

Источником лейшманиоза являются больной человек, собаки, дикие млекопитающие из отряда хищников (лиса, волк, енотовидная собака) и грызунов (ленивцы, даманы, муравьеды, опоссумы, песчанки) [4, 9].

Контактный путь, доказанный при висцеральном лейшманиозе, например, при получении микротравм, остается недоказанным при кожном

Главным резервуаром лейшманиоза при трансмиссивном пути заражения являются самки moskitov, их насчитывается до 600 видов [8, 9].

Ежегодно в мире регистрируются от 1,5 до 2,0 млн новых случаев лейшманиоза. Умирают от кожного и висцерального лейшманиоза от 20 до 30 тыс. человек в год. Урбанизация планеты приводит к изменению климата: строительство дамб, ирригационных систем, вырубка лесов — все это способствует возникновению новых эндемичных очагов [1, 7]

Болезнь чаще поражает самые бедные слои населения, заболевание людей во многих странах связано с недостаточностью питания, миграцией, плохими жизненными условиями, слабой иммунной системой и отсутствием ресурсов для проведения профилактических мероприятий в эндемичных регионах мира.

Лейшманиоз регистрируется в 98 странах. Наиболее активные очаги висцерального лейшманиоза в Китае, Индии, Бангладеш, Иране, Ираке, Турции, странах побережья Средиземноморья, на Африканском континенте в Судане, Эфиопии, Сомали, Кении, Уганде, Гане, а также в странах Центральной и Южной Америки.

Более 90 % новых случаев выявляются в шести странах: Бангладеш, Бразилии, Индии, Судане, Эфиопии и Южном Судане [4, 5, 6, 7, 8].

Таблица
Выявленные случаи заболевания лейшманиозом при анализе публикаций

Страна	Страна заражения	Год публикации	ВЛ	КЛ	Город, регистрация, публикации	Эндемические очаги
Армения	Израиль	2013	21 ребенок	–		Эндемический очаг
Грузия		2006 2007 2011	174 90 190	? ? ?	Тбилиси	Эндемический очаг (нет док-в)
Крым	Грузия	2014	2 ребенка	–	Симферополь	Эндемический очаг
Россия	Крит Турция Мексика Грузия Израиль Палестина Иордания	2015	3 случая 1	? ? 1	Москва Краснодар Благовещенск	
Таджикистан Украина	Таджикистан Таджикистан Вьетнам	2013 2014	1 2	 2	С.-Петербург Харьков Запорожье	Эндемический очаг
Украина	Вьетнам	2014	31		Киев Харьков Львов Закарпатье Сумская обл.	

Вместе с тем лейшманиоз регистрируется в Греции, Испании, Португалии, Франции, Мексике.

В странах бывшего СССР за 2006–2013 годы выявляли от 1 до 200 случаев лейшманиоза. Так, при анализе публикаций были выявлены случаи заболевания (см. табл.) [1, 8].

Клинические формы лейшманиоза

Инкубационный период лейшманиоза от 10 дней до одного года.

1. Висцеральный лейшманиоз вызывают *L. donovani*, *L. infantum*. Описаны случаи, вызываемые *L. tropica*, которые протекали в виде лимфаденопатии.

В Индии на языке хинди висцеральный лейшманиоз носит название кала-азар («черная лихорадка», «смертельная лихорадка»), так как заболевание сопровождается потемнением кожи лица, живота, конечностей. Для висцерального лейшманиоза характерны нерегулярные приступы лихорадки, потеря веса, гепато-спленомегалия, анемия.

Различают висцеральный лейшманиоз острый и хронический, эндемический и спорадический. Как правило, без лечения случаи висцерального лейшманиоза заканчиваются смертью [1, 10].

2. Кожный лейшманиоз вызывают лейшмании Старого Света (*L. aethiopica*, *L. infantum*, *L. tropica*, *L. donovani*, *L. major*). Клинически заболевание проявляется в виде появления локализованных диффузных (рассеянных) язв с возможным развитием рецидивов. Процесс часто затягивается на многие месяцы, отсюда и название «годовик».

3. Слизисто-кожный лейшманиоз (мукозный) является наиболее распространенной формой болезни. Язвы образуются на открытых участках тела. Со временем наличие язв приводит к частичному или полному разрушению слизистых оболочек носа, рта, горла и гениталий.

А. Городской кожный лейшманиоз имеет инкубационный период

2–8 месяцев. У больных образуются бесцветные сухие изъязвления кожи. Воспалительный процесс затягивается на длительный период (год и более). Отмечается спонтанное заживление язв.

Б. Сельский зоонозный лейшманиоз чаще вызывается *L. tropica*. Заболевание длится до 6–8 месяцев, изъязвления безболезненных язвенных дефектов связаны с развитием вторичной микробной флоры.

Лейшманиоз может иметь рецидивирующее течение (волчаночный, туберкулезный). Хронические формы заболевания продолжаются много лет. Без лечения процесс приводит к обезображиванию, особенно в случаях с локализацией язв на открытых участках тела, и формированию грубых рубцов («печать Каина»).

Ороназальный лейшманиоз (*L. aethiopica*) вызывает развитие деформации ноздрей, губ. Язвы заживают в течении 2–5 лет.

Классическая клиника висцерального лейшманиоза

Начало болезни постепенное: повышается температура тела до субфебрильных цифр; отмечаются снижение аппетита, слабость; может пальпироваться увеличенная селезенка. В месте укуса москита обнаруживается первичный аффект — бледно-розовая папула с небольшим отложением пигмента размером с чечевичу.

В разгар болезни температура поднимается до 39–40 °С, лихорадка имеет волнообразный характер с двумя пиками в течении дня или бывает ремитирующая. Лихорадка длится от нескольких дней до нескольких месяцев, может сменяться периодами апирексии. При осмотре больного отмечают бледность кожи и слизистых, обильное потоотделение, увеличение лимфатических узлов. При аускультации определяются приглушенные сердечные тоны, тахикардия, которая выявляется даже в периоды уменьшения лихорадки, снижены цифры артериального давления. У всех больных выявляется значительное увеличение

печени и селезенки. Увеличенная селезенка может занимать всю брюшную полость и опускаться в малый таз [1, 13].

Выраженные изменения выявляются в анализах крови: агранулоцитоз, значительное снижение количества нейтрофилов при увеличении лимфоцитов, уменьшение эритроцитов, тромбоцитов, анизоцитоз.

При прогрессировании болезни развиваются почечная недостаточность, асцит, нарастает кахексия, присоединяются вторичные бактериальные инфекции, может развиваться грозное осложнение — разрыв селезенки.

Диагноз лейшманиоза подтверждается обнаружением лейшманий в толстой капле крови или окрашенных по Романовскому-Гимзе мазках крови. Для обнаружения лейшманий рекомендуется просмотр большого количества полей зрения в мазках крови. Чаще лейшмании выявляются в мазках пунктата костного мозга, лимфатических узлов, селезенки.

При постановке серологических тестов выявляют специфические антитела класса IgM, IgG в диагностических значениях.

В периферической крови обнаруживают анемию, лейкопению, тромбоцитопению, повышение СОЭ до 60 мм в час.

Осложнения: вторичные бактериальные инфекции, пиелонефрит, энтероколит, фурункулез, гнойно-некротические процессы, разрыв селезенки [14].

Кожный лейшманиоз

Возбудителей кожного лейшманиоза (лейшманиоза Старого Света) насчитывается пять видов: *L. infantum*, *L. tropica*, *L. donovani*, *L. aethiopica*, *L. tropica major*. Отмечается летне-осенняя сезонность заболевания. Инкубационный период 10–20 дней, иногда продолжается до нескольких месяцев. В месте инокуляции возбудителя на открытых участках кожи медленно формируется одна (или две) первичная лейшманиома — розовая гладкая папула 2–3 см в диаметре. Через 1–2 недели в центре папул формируется безболезненный, реже малоболлезненный, некротический очаг — изъязвление с подрытыми

краями, окруженное валиком инфильтрированной кожи с обильным отделяемым серозно-гнойного или геморрагического характера. Вокруг первичной лейшманиомы развиваются вторичные бугорки обсеменения, из которых в дальнейшем формируются новые язвы, сливающиеся в единое изъязвленное поле — последовательная лейшманиома. Процесс образования язв сопровождается увеличением регионарных лимфатических узлов, лимфангитом.

Спустя 2–6 месяцев язвы заживают, оставляя рубцы («печать Каина»). Клинические анализы крови, мочи, биохимические тесты, как правило, в норме.

Пациенты с кожным лейшманиозом обычно лечатся у дерматологов [4, 5, 6, 11, 12].

Клиническое наблюдение 1

В нашей клинике за последние три года находились несколько пациентов, у которых диагностировали лейшманиоз.

Пациент С. 26 лет поступил в клинику больницы имени С. П. Боткина 12 января 2013 года с диагнозом «лихорадка неясного генеза». Из анамнеза известно, что он заболел 25 декабря 2012 года, когда поднялась температура до 40,0 °С, отмечал озноб, слабость, нарушение сна. Лечился амбулаторно по поводу ОРВИ, затем был госпитализирован.

В отделении состояние оценивалось как средней тяжести. При сборе эпидемиологического анамнеза установлено, что пациент в сентябре 2012 года пребывал в Мексике, в октябре 2012 года был в Париже, а в декабре 2012-го в Испании.

При проведении обследования лихорадящего больного исключали ВИЧ-инфекцию, тифопаратифозные заболевания, малярию, сепсис, онкогематологические болезни. Были выполнены лабораторные и инструментальные исследования: УЗИ, ЭхоКТ, МРТ, МСКТ органов грудной и брюшной полости, забрюшинного пространства, малого таза.

В гемограммах отмечали снижение лейкоцитов до 2,5 тыс. в мкл, тромбоцитопению до 80 тыс. в мкл, анемию. При УЗИ выявлена гепатоспленомегалия.

17 января была проведена стерильная пункция, где отмечено усиление пролиферации гранулоцитов и мегакариоцитов без нарушения созревания.

Пациент получал антибактериальную терапию, глюкокортикоиды, переливания тромбоцитарной массы. Лечение было неэффективным, больной продолжал лихорадить до 39,0 °С.

28 января в препаратах костного мозга были обнаружены лейшмании. 31 января в ЦНИИ эпидемиологии (научный сотрудник Л. С. Карань) методом ПЦР в крови, а позже и в материале костного мозга была обнаружена ДНК лейшмании *donovani*, что дало основание к диагнозу «висцеральный лейшманиоз».

До установления правильного диагноза больной был консультирован многими специалистами клиники, были проведены девять консилиумов, высказаны более десяти предположений о диагнозе.

Больному проводили лечение амфополлом (липосомальная форма амфотирецина В) в суточной дозе 300 мг в течение пяти дней с повторным введением препарата в виде двух инъекций с перерывом семь дней. В контрольных анализах лейшманий в крови и пунктате костного мозга найдены не были. Больной выписан на 40-й день пребывания в стационаре в удовлетворительном состоянии [15].

Таким образом, инфицирование лейшманиями с последующим развитием болезни становится вероятным в связи с поездками наших граждан в страны с тропическим и субтропическим климатом. Необходимо учитывать эпидемиологический анамнез, а также характерные клинические симптомы на предмет исключения лейшманиоза.

Клиническое наблюдение 2

Пациент Х. 29 лет поступил самостоком в приемное отделение больницы имени С. П. Боткина 02 июля 2016 года. Из представленной медицинской документации и со слов пациента известно, что он около года является ВИЧ-положительным, к врачам не обращался, не обследовался. Ухудшение состояния отмечено

в течение нескольких последних дней, когда повысилась температура тела и появились боли в животе.

В приемном покое больницы были выполнены общий анализ крови, рентгенография органов грудной клетки, УЗИ брюшной полости. В связи с выраженными изменениями в гемограмме пациент был переведен в гематологическое отделение.

Состояние больного в отделении оценивалось как тяжелое: отмечались выраженная интоксикация, желтушность кожных покровов, геморагии на слизистых, кровоточивость десен, увеличение до 1–2 см периферических лимфатических узлов, в легких выслушивались влажные хрипы, ЧСС — 90 в минуту, АД — 110 / 70. Живот был значительно увеличен в размерах за счет выраженной гепатоспленомегалии, печень пальпировалась на 12 см ниже реберной дуги, селезенка на 10 см. Отмечалось потемнение мочи. Неврологический статус был без особенностей.

В анализе крови выявлено снижение количества лейкоцитов до $2,6 \times 10^{12}$, эритроцитов до $3,4 \times 10^{12}$, гемоглобина до 88 г/л, тромбоцитов до 19×10^9 (панцитопения).

В биохимическом тесте отмечено повышение показателей билирубина, АСТ, щелочной фосфатазы.

Маркеры сифилиса, вирусных гепатитов не были обнаружены, обнаружен антиген p 24 ВИЧ.

Анализ результата стеральной пункции позволил исключить заболевание крови.

При УЗИ органов брюшной полости выявлено значительное увеличение печени до 200 мм, селезенки до 200 мм, увеличение лимфатических узлов — мезентериальных, в воротах печени, в малом сальнике. Определялась свободная жидкость в объеме одного литра. Заключение УЗИ: гепатомегалия, спленомегалия, диффузные изменения печени и поджелудочной железы, лимфаденопатия, асцит.

При КТ органов грудной клетки диагностирована двухсторонняя полисегментарная пневмония.

Больной получал инфузионную и гемотрансфузионную терапию, вводились комбинированные антибиотики, противогрибковые

препараты. Однако состояние больного прогрессивно ухудшалось, сохранялась панцитемия, и 08 июля 2016 года больной был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии инфекционного корпуса больницы имени С. П. Боткина в связи с нарастающей дыхательной недостаточностью.

В отделении реанимации была выполнена санационная ФЭГДС, при исследовании БАЛ методом ПЦР выявлены герпес-вирусные агенты EBV, NV VI типа, CMV. Была модифицирована антибактериальная, противогрибковая терапия.

12 июля 2016 года была повторена стеральная пункция. Заключение: гранулоцитопоз резко сужен, пролиферация сохранена, лимфопоз без особенностей, задержка созревания эритрокариот, тромбоцитопоз редуцирован. В препаратах костного мозга обнаружены лейшмании (*Leishmania donovani*), свободно лежащие и фагированные в гранулоцитах.

12 июля 2016 года был получен положительный иммунный блот, подтвержден диагноз ВИЧ-инфекции, в связи с чем больной проконсультирован со специалистами центра СПИДа.

Состояние больного прогрессивно ухудшалось: нарастала полиорганная недостаточность с доминированием дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности. 12 июля 2016 года в 14:00 констатируется смерть.

Заключительный диагноз: ВИЧ-инфекция стадии 4В, фаза прогрессирования, вне ААРТ. Висцеральный лейшманиоз, двухсторонняя пневмония, кандидоз кожи и слизистых, активная ЦМВ-инфекция, EBV-инфекция. Осложнения: синдром полиорганной недостаточности.

В условиях пандемии ВИЧ-инфекции лейшманиоз приобретает еще большую актуальность, так как ВИЧ повышает риск развития лейшманиоза во много раз. Особенно актуален висцеральный лейшманиоз, который в 2–12 % случаев протекает в сочетании с ВИЧ-инфекцией. В некоторых регионах число случаев такого сочетания может достигать до 40 %, например, в Южной Азии, в Эфиопии. В странах Средиземноморья

висцеральный лейшманиоз стал одной из частых оппортунистических инфекций. В Европе сочетание ВИЧ и лейшманиоза связано с употреблением наркотиков.

Механизм взаимодействия лейшманий и ВИЧ синергический, оба возбудителя поражают клетки моноцитарного ряда — макрофаги, что в конечном итоге приводит к повышению вирусной нагрузки и прогрессированию болезни. В то же время иммуносупрессия, вызванная ВИЧ, способствует размножению лейшманий и развитию тяжелых органных поражений. Коинфекция характеризуется низким уровнем излечения, высоким токсическим действием препаратов, более частыми рецидивами, высокой летальностью [16].

Лабораторная диагностика висцерального лейшманиоза

1. Паразитологический метод

Данный метод в основном включает микроскопию гистологических препаратов из биоптатов селезенки, лимфоузлов, печени, костного мозга и мазков из аспиратов костного мозга, из лейкоцитов крови или цельной крови. Препараты исследуются на наличие амастигот: телец Лейшмана-Донована, имеющих круглую или овальную форму 2–4 мкм в диаметре с характерным ядром и кинетопластом. Амастиготы обнаруживаются в мононуклеарах или макрофагах после окрашивания по Гимзе. Использование данного метода в отношении аспиратов селезенки ограничивается осложнениями заболевания в виде жизнеугрожающих кровотечений, регистрируемых в среднем в 0,1 % случаев. Хотя специфичность и чувствительность этого метода очень высоки — 93 и 99 % соответственно. Следует отметить, что анализ биоптата печени в сравнении с биоптатом селезенки менее информативен. Аспирация костного мозга более безопасна с точки зрения развития осложнений, но чувствительность метода ниже — от 52 до 58 %. Самая низкая чувствительность отмечается при микроскопии мазка лейкоцитов крови или цельной периферической крови [17].

2. Метод культивирования лейшманий

Образцы клинического материала культивируются в монофазной (М199, среда Шнейдера, среда Грейса) или бифазной (среда Нови-МакНил-Николь и среда Эванса) средах. Образцы инкубируются при 22–28 °С, культура тестируется еженедельно в течение четырех недель роста, пока амастиготы не перейдут в промастиготы [18]. Данный метод редко используется для рутинной диагностики лейшманиоза, а в основном служит для получения штаммов лейшманий и приготовления антигенов для иммунологических методов исследований.

3. Биологический метод

При использовании этого метода пробы биологического материала вводят восприимчивым лабораторным животным: хомякам, гвинейским свинкам или грызунам. Но так как этот метод очень длителен (до появления клинических симптомов также может пройти несколько месяцев), он, скорее, используется для описания биологических свойств отдельных видов и штаммов лейшманий.

4. Метод аллергопробы

Лейшманиозная кожная проба (ЛКП) или тест Монтенегро используется для определения реакции гиперчувствительности организма к лейшманиям в результате его предшествующей сенсибилизации. Это тест прост, достаточно специфичен и чувствителен, однако он не способен дифференцировать текущую и прошлую инфекцию [19].

5. Иммунологические методы

Иммунологические методы основаны на определении специфических антител к лейшманиям или антигенов лейшманий в реакциях антиген — антитело. Используются следующие методы диагностики: реакция прямой агглютинации (РПА), реакция непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), реакция непрямой гемагглютинации (РППА), иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХА). Иммунологические тесты наиболее широко используются в лабораторной диагностике висцерального лейшманиоза. К их

недостаткам относятся различная специфичность и чувствительность в отношении разных видов лейшманий и гетерологичных микроорганизмов, а также длительный период выявления антител, что затрудняет дифференциальную диагностику ранней инфекции, латентно протекающего заболевания, рецидивирующего течения и реконвалесценции.

Определение лейшманиозных антигенов особенно актуально для пациентов с первичными и вторичными иммунодефицитами, особенно для ВИЧ-инфицированных больных. Так, лейшманиозные антигены определяются в моче методом латекс-агглютинации (МЛА) со специфичностью от 82 до 100 % и чувствительностью от 47 до 95 % в зависимости от географического расположения эндемичной территории и циркулирующих там видов лейшманий [20].

РПА-метод используется на многих эндемичных территориях, особенно развивающихся стран. В основном диагностируются антигены промастигот, которые обнаруживаются в сыворотке, плазме и цельной крови. Неразрушенные трипсинизированные окрашенные кумасси промастиготы могут быть использованы как в виде суспензии или в лиофилизированной форме в реакции прямой агглютинации. Образец биологического материала от пациента инкубируют с окрашенными инактивированными промастиготами, наблюдая агглютинацию в случае присутствия специфических антител. Показатели чувствительности и специфичности РПА высокие — 95 и 97 % соответственно. Важным преимуществом этого метода является широкая кросс-реактивность для всех видов лейшманий, то есть независимость результата от географии эндемичного очага. Его ограничением в применении могут быть длительный период инкубации клинического материала с антигеном (от 12 до 18 часов) и обязательная постановка ряда разведений образца. Агглютинирующие антитела обнаруживаются и через пять лет после перенесенного заболевания более чем у 50 % пациентов, что также накладывает ограничения на использование этого метода на высокоэндемичных территориях. Получение положительного результата у пациентов

с отсутствием характерных для висцерального лейшманиоза симптомов может свидетельствовать о прошлой бессимптомной инфекции, преклиническом периоде заболевания или кросс-реактивности с такими заболеваниями, как лепра, трипаносомоз, малярия, шистосомоз [21].

РНИФ является методом, способным детектировать специфические противолейшманиозные антитела на ранней стадии инфицирования и до 6–9 месяцев после лечения, хотя низкие концентрации АТ могут выявляться спустя годы после перенесенного заболевания. Титры АТ 1 : 160 являются диагностически положительными в РНИФ. Чувствительность и специфичность метода составляют 88–92 % и 81–92 % соответственно. Кросс-реактивность наблюдается с сыворотками от пациентов с малярией, туберкулезом, бруцеллезом, брюшным тифом [22–24].

В РНГА сыворотка пациента соединяется со взвесью эритроцитов человека с адсорбированными на них очищенными антигенами *L. donovani*. Положительным считается результат реакции в разведении 1 : 64 и выше. Чувствительность и специфичность метода составляют 90–100 % и 86 % соответственно [25, 26]. Кросс-реактивность наблюдается с сыворотками пациентов с теми же заболеваниями, которые перечислены для РНИФ. РНГА редко используется в лабораторной диагностике лейшманиоза, а чаще для скринингового метода для определения частоты контактов населения с этим возбудителем в его природных очагах.

ИФА-метод — один из основных методов для подтверждения диагноза висцерального лейшманиоза. В качестве антигенов в тестах, основанных на определении специфических антител, используются поверхностные антигены, рибосомальные и ядерные белки, белки гистонов. В связи с этим чувствительность и специфичность метода зависят от используемых антигенов и различаются для разных территорий. Наиболее часто используется нативный растворимый антиген. А в последние два десятилетия в большинстве наборов реагентов для выявления специфических антител к лейшманиям используется рекомбинантный антиген rK39

(39-аминокислотный иммунодоминантный повторяющийся В-клеточный эпитопный участок 230 кДа белка из семейства кинезинов *L. chagasi*). Чувствительность метода достигает 93–100%, а специфичность — 97–98% на многих эндемичных территориях, таких как Индия и Непал, и чуть ниже на территории Восточной Африки [27]. Для последней используется новый рекомбинантный антиген гKL08 из аутохтонного штамма *L. donovani* из Судана [11]. Противолейшманиозные антитела с использованием ИФА-метода детектируются в сыворотках переболевших в течение 2–12 лет после выздоровления [21].

ИХА-тесты разработаны в основном для выявления антител к уже упоминавшемуся рекомбинантному антигену гK39. Эти тесты сейчас используются наиболее широко в лабораторной диагностике риккетсиозов из-за своей простоты, скорости получения результата, высокой чувствительности и специфичности, достигающих 100% [28]. Это метод используется также как предпочтительный для лабораторного подтверждения лейшманиоза у ВИЧ-инфицированных. С его помощью антитела можно детектировать также в моче и мокроте.

При анализе многочисленных литературных источников ИФА и ИХА на основе гK39, а также РПА являются наиболее чувствительными и специфичными методами по сравнению с РНИФ и ИФА с растворимыми нативными антигенами. Из них ИХА на основе гK39 демонстрирует наилучшие результаты [29].

6. Молекулярные методы

ПЦР как прямой метод диагностики возбудителя в клиническом материале также широко применяется для лабораторного подтверждения ВЛ на всех стадиях и при всех формах инфекционного процесса: бессимптомном течении заболевания, при развернутой клинической картине ВЛ, при рецидивирующем течении или реинфекции. Методом ПЦР исследуются биоптаты костного мозга, лимфоузлов, печени и селезенки, а также лейкоцитарная фракция крови или цельная кровь. В настоящее время с использованием данного метода чаще исследуются биоптаты

костного мозга и кровь. Как правило, диагностическая чувствительность при исследовании аспиратов костного мозга выше, чем при исследовании периферической крови. Появились публикации о высокой диагностической чувствительности метода при исследовании мочи [30]. В качестве мишеней для ПЦР чаще всего в литературе встречаются сведения о генах кинетопласта, рибосомальных генах, генах, кодирующих α -тубулин, белок gp63, ITS-регионы [31]. ПЦР с праймерами к ДНК кинетопласта демонстрирует высокую диагностическую чувствительность метода (до 100%) из-за высокой копийности мишени — до 10^4 копий в паразите [32].

Также в качестве методов, основанных на амплификационных технологиях, используются NASBA, LAMP и другие.

Лечение висцерального лейшманиоза

(По материалам доклада на заседании комитета экспертов ВОЗ по борьбе с лейшманиозом, Женева, 2010)

- Соединения пентавалентной сурьмы:
 - меглюмина антимонат 81 мг/мл;
 - стибоглюконат натрия 100 мг/мл (внутримышечно или внутривенно медленно).
- Амфотерицин В — полиеновый антибиотик (дезоксихолат амфотерицина В).
- Липидные формы амфотерицина В:
 - липосомальный амфотерицин В;
 - паромомицин (аминозидин);
 - пентамидина изетионат внутримышечно, внутривенно.
- Милтефазин.
- Азоловые препараты:
 - кетоконазол;
 - флуконазол;
 - интраконазол.

Для лечения висцерального лейшманиоза золотым стандартом являются препараты пентавалентной сурьмы (эффективность 90%). Препараты второго ряда — амфотерицин В и пентамидин.

Лечение кожного лейшманиоза

- Паромомициновые мази.
- Препараты пентавалентной сурьмы. Препараты вводят в места по-

ражения по 0,5–5,0 мл, обкалывая язвенные дефекты. На курс 5–8 инфильтраций.

- Криотерапия. Местное применение жидкого азота (-195°C) 1–2 раза в неделю на протяжении шести недель. Эффективность метода достигает 95%.
- Термотерапия. Применение высоких температур ($+50^{\circ}\text{C}$) также высокоэффективно. Тридцатиминутное воздействие на пораженные участки кожи с помощью специальной аппаратуры. Приборы работают на аккумуляторах, удобны для использования в полевых условиях.

Заключение

Увеличение случаев лейшманиоза во многих регионах мира должно инициировать медицинских специалистов проводить обследование больных, прибывших из эндемичных очагов, с целью исключения лейшманиоза.

Для улучшения профессиональной подготовки врачей всех специальностей по проблеме лейшманиоза можно рекомендовать ввести в обучающие программы необходимую информацию по данному заболеванию.

Для улучшения лабораторной диагностики заболевания необходимо оснастить лаборатории современными тест-системами. Лечебные учреждения снабдить фармакологическими препаратами для специфической терапии лейшманиоза.

Список литературы

1. Борьба с лейшманиозом. Доклад на заседании комитета экспертов ВОЗ по борьбе с лейшманиозом. Женева. 22–26 марта 2010. Серия технических докладов ВОЗ № 949. ВОЗ. 2011: 243.
2. Би-региональное совещание по борьбе с лейшманиозом для укрепления трансграничного сотрудничества стран Азии. АВАЗА. Туркменистан. 2014.
3. Стандарт специализированной помощи детям при кожной форме лейшманиоза. 2012. № 841. Зарегистрирован в Минюсте 13.03.2013.
4. Вашура Л. В., Савенкова М. С., Саматова Я. Г. Случай лейшманиоза в стационаре. Сложности клинической диагностики. Детские инфекции. 2013; 3: 365–368.
5. Заславский Д. В., Андриенко Е. М., Александрова И. Ю. Верификация лейшманиоза кожи. Вестник дерматологии и венерологии. 2013: 91–95.
6. Савельев В. Г., Фирюлина О. М., Зарудна О. В., Добряк Т. Ю. Случай завозного кожного лейшманиоза в Запорожье. Запорожский медицинский журнал. 2014; 4: 95–98.

7. Рыманенко Н.В., Усова С.В., Крюгер Е.А., Романенко С.П. Клинический случай висцерального лейшманиоза у ребенка раннего возраста в Крыму. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2014; 4: 42–45.
8. Понировский Е.Н., Стрелкова М.В., Завойкин В.Д. Эпидемиологическая ситуация по лейшманиозу в РФ. Медицинская паразитология и 9. паразитарные болезни. 2015; 3: 3–6.
9. Козинян А.Л., Мхитарян А.Л., Асоян Е.А. Клинико-лабораторная характеристика лейшманиоза в Армении. Актуальная инфектология. 2014; 4: 131–133.
10. Черкасский Б.Л. Лейшманиоз. Сб. Завозные болезни. 1979: 41–42.
11. Бодня Е.Н., Савоськина В.А., Велиева Т.А. Два случая кожного лейшманиоза в Харькове. Дерматология и венерология. 2014; 3: 57–61.
12. Мельниченко Н.Е., Платонов А.В., Базанов Е.К., Карпушина Л.П. Случай лейшманиоза в клинической практике врача дерматовенеролога. Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2015; 27: 70–73.
13. Кадышев В.А., Шахмардинов М.З., Рылов С.М. Случай тяжелого течения висцерального лейшманиоза. IX Научно-практическая конференция «Инфекционные болезни». Тезисы докладов. 2011: 35–36.
14. Александрова О.К., Лебедев В.В., Лыжина А.С., Дубова Л.В. Средиземноморско-среднеазиатский лейшманиоз у пациента 17 лет. Детские инфекции. 2008; 3: 68–71.
15. Беляева Н.М., Ватутина О.В., Трякина И.П., Никитина Г.Ю. Клинико-эпидемиологические аспекты висцерального лейшманиоза. Материалы VI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. 2014: 37–38.
16. Ермак Т.Н., Кравченко А.В., Груздев Б.М., Филиппов П.Г. Первый случай висцерального лейшманиоза у больного ВИЧ-инфекцией в России. Тер. архив. 1997; 11: 243.
17. Boelaert M, Bhattacharya S, Chappuis F, El Safi S, Hailu A, Mondal D, et al. Evaluation of rapid diagnostic tests: Visceral leishmaniasis. Nat. Rev. Microbiol. 2007; 5: 530–6.
18. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002; 9 (5): 951–8.
19. Mohammad Akhoundi M, Tim Downing T, Jan Votýpka J, et al. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. Mol. Aspects Med. 2017. Jan 31. pii: S0098–2997(16)30045–0. doi: 10.1016/j.mam.2016.11.012.
20. Riera C, Fisa R, Lopez P, Ribera E, Carro J, Falco V, et al. Evaluation of a latex agglutination test (KAtex) for detection of Leishmania antigen in urine of patients with HIV–Leishmania coinfection: Value in diagnosis and post-treatment follow-up. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2004; 23 (12): 899–904.
21. Sakkas H, Gartzonika C, Levidiotou S. Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis. J. Vector Borne Dis. 53, March 2016, pp. 8–16.
22. Iqbal J, Hira P, Saroj G, Philip R, Al-Ali F, Mada P, et al. Imported visceral leishmaniasis: Comparative analysis of three assays. J. Clin. Microbiol. 2002; 40 (2): 475–9.
23. Assis TSM, Rabello A, Werneck GL. Latent class analysis of diagnostic tests for visceral leishmaniasis in Brazil. Trop. Med. Int. Health 2012; 17 (10): 1202–7.
24. Kohanteb J, Ardehali S. Cross-reaction of sera from patients with various infectious diseases with Leishmania infantum. Med. Princ. Pract. 2005; 14 (2): 79–82.
25. Dakic Z, Pelemis M, Stevanovic G, Poluga J, Lavadinovic L, Milosevic I, et al. Epidemiology and diagnosis of visceral leishmaniasis in Serbia. Clin. Microbiol. Infect. 2009; 15 (12): 1173–6.
26. Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, Peeling R, et al. Visceral leishmaniasis: What are the needs for diagnosis, treatment and control? Nat. Rev. Microbiol. 2007; 5 (11): 873–82.
27. Abass E, Bollig N, Reinhard K, Camara B, Mansour D, Viseruna A, et al. rKLO8, a novel Leishmania donovani-derived recombinant immunodominant protein for sensitive detection of visceral leishmaniasis in Sudan. Plos. Negl. Trop. Dis. 2013; 7 (7): e2322.
28. Monno R, Giannelli G, Rizzo C, De Vito D, Fumarola L. Recombinant K39 immunochromatographic test for diagnosis of human leishmaniasis. Future Microbiol. 2009; 4 (2): 159–70.
29. Maia Z, Lirio M, Mistro S, Mendes CMC, Mehta S, Badaro R. Comparative study of rK39 Leishmania antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis: Systematic review with meta-analysis. Plos. Neg. Trop. Dis. 2012; 6 (1): e1484.
30. Motazedian M, Fakhar M, Motazedian MH, Hatam G, Mikaeli F. A urine-based polymerase chain reaction method for the diagnosis of visceral leishmaniasis in immunocompetent patients. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 2008; 60 (2): 151–4.
31. Srividya G, Kulshrestha A, Singh R, Salotra P. Diagnosis of visceral leishmaniasis: Developments over the last decade. Parasitol. Res. 2012; 110: 1065–78.
32. Galai Y, Chabchoub N, Ben-Abid M, Ben-Abda I, Ben-Alaya-Bouafif N, Amri F, et al. Diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis by detection of Leishmania antibodies and Leishmania DNA in oral fluid samples collected using an oracol device. J. Clin. Microbiol. 2011; 49 (9): 3150–3.



Хилак форте в педиатрической практике: возможности и перспективы метабитиков

02 июня 2017 года в г. Казани состоялась VI Национальная школа по инфекционным болезням, проведенная Национальным научным обществом инфекционистов при поддержке Минздрава республики Татарстан и Казанского государственного медицинского университета в целях информирования врачей широкого круга специальностей по вопросам диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний. В работе школы приняли участие свыше 200 врачей-инфекционистов, специалистов общей практики, педиатров, терапевтов, фтизиатров и гастроэнтерологов.

В выступлении на тему «Место метабитиков в арсенале современного педиатра» доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры детских болезней Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Александр Васильевич Горелов отметил, что согласно данным Федерального центра государственного санитарно-эпидемиологического надзора Минздрава России Роспотребнадзора, в России в 2014 году были диагностированы 535342 случая острых кишечных инфекций у детей в возрасте до 17 лет.

Одним из наиболее распространенных признаков инфекционных кишечных заболеваний является диарея, при лечении которой необходимо устранить не только симптом — учащенный жидкий стул — но и его причину. Сегодня ученые считают одной из важных причин развития диареи нарушение состава бактериальной флоры кишечника, обусловленное внутренними или внешними факторами. Это состояние принято называть дисбактериозом или дисбиозом. Помимо диареи, для дисбактериоза характерны вздутие, запоры, боль или дискомфорт в животе, урчание, повышенное газообразование.

Для восстановления кишечной микрофлоры традиционно используются несколько групп препаратов: пребиотики, пробиотики и метабитики. Все они способствуют нормализации кишечной микрофлоры, но только метабитики содержат не живые бактерии, а их готовые метаболиты.

Важные метаболиты четырех убитых нагреванием бактерий (*Lactobacillus helveticus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*), такие как КЦЖК и молочная кислота, содержатся в метабитотике Хилак форте.

Хилак форте уже более 12 лет входит в российский отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Показаниями к применению препарата являются многочисленные дисбиотические состояния: нарушение физиологической флоры тонкого и толстого кишечника (во время и после лечения антибиотиками или сульфаниламидами, лучевой терапии); диарея, метеоризм, запоры; гастроэнтерит, колит; расстройства ЖКТ, вызванные сменой климата; сальмонеллез в стадии реконвалесценции (в том числе у детей грудного возраста).

