

15. Инфекции, предавани чрез членестоноги

Представени са по-важните микробиологични тестове за установяване етиологията на инфекциите, предавани чрез членестоноги. Диагностиката на тези инфекции се опира на клинични, епидемиологични и лабораторни данни.

15.1. Лаймска борелиоза

15.1.1. Етиологичен причинител, епидемиология, клинична картина

Най-често срещаната кърлежово-преносима инфекция в северното полукълбо е Лаймската борелиоза (Лаймската болест-ЛБ) с основни причинители борелиите от комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Baranton et al., 1992). Това е мултисистемно заболяване, засягащо най-често кожата, нервната система, ставите и сърцето (Van Dam et al, 1993; Balmelli et al, 1995).

В Европа главен преносител на *B. burgdorferi* са кърлежите от вида *Ixodes ricinus*.

В развитието си болестта преминава през три стадия, които не винаги са ясно очертани - ранна локализирана инфекция (първи стадий), ранна дисеминирана инфекция (втори стадий) и късна Лаймска борелиоза (трети стадий).

Типична проява на *ранната* ЛБ е еритема мигранс (ЕМ) – зачервяване на кожата около мястото на ухапването от кърлеж, което се появява 1-2 седмици по-късно и бързо разширява диаметъра си. Диагнозата на типичната ЕМ е клинична. Серологичното изследване на този етап може да бъде фалшиво отрицателно. Доказването на ДНК на борелиите в кръвта на пациента не се препоръчва поради ниска чувствителност в тези проби. По-надеждно е откриването на ДНК на борелиите в кожна биопсия, но този подход също не се препоръчва поради инвазивността на метода.

Ранната дисеминирана Лаймска борелиоза се извява с множествени еритема мигранс лезии, с артрит, ендо- или миокардит, неврити, менингит, енцефалит, които са резултат от разпространението на *B. burgdorferi* в организма по кръвен и лимфен път.

Месеци или години след първоначалното заразяване с *B. burgdorferi*, при липса на адекватно лечение, се развива третият стадий на болестта - *късната* Лаймска борелиоза. Клиничните прояви са хроничен артрит, хроничен атрофичен акродерматит, хронична енцефалопатия и др.

15.1.2. Събиране, съхранение и транспортиране на подходящ клиничен материал за изследване за Лаймска болест

За целта се изследват следните клинични материали: серум или плазма за серологично тестване; цяла кръв или биопсичен материал от кожни лезии за доказване ДНК на *Borrelia burgdorferi* (Таблица 46).

Клиничните материали за изследване трябва да са надлежно опаковани, съпроводени с документи, съдържащи информация за пациента, диагноза, проведено лечение, изсикваните изследвания, лекуващ лекар.

Таблица 46. Методи за изследване на Лаймска борелиоза, видове клинични материали, начини на събиране и условия за съхранение и транспортиране на клиничните материали.

Метод за изследване	Диагностична процедура	Подходящ клиничен материал	Начини на събиране, температура на съхранение, оптимално време за транспортиране
Серологичен тест	Скрининг за ИгМ и ИгГ антитела. При положителен резултат потвърждаване с имуноблот	серум	Стерилни контейнери, SST (за серум), ≤ 2 часа на стайна температура, до 7 дни в хладилна верига на 2 – 4°C; могат да се съхраняват на -20°C няколко месеца.
Серологични тестове при невоборелиоза	Скрининг за ИгМ и ИгГ антитела. При положителен резултат потвърждаване с имуноблот	серумна и ликворна проби, взети в рамките на 24ч	Стерилни контейнери, SST (за серум), ≤ 2 часа на стайна температура, до 7 дни в хладилна верига на 2 – 4°C; могат да се съхраняват на -20°C няколко месеца.
Доказване ДНК на борелии (NAAT)	PCR (полимеразно верижна реакция)	биопсия от кожа при ЕМ, синовиална течност Лайм артрит, ликвор при невроборелиоза	<1ч на стайна температура; до 24 часа се транспортира в хладилна верига на 4 – 5°C; ако ДНК не се изолира веднага, пробата се съхранява на -70°C

15.1.3. Етиологична диагностика на ЛБ

Методът на избор за тестване, както за ранните, така и за късните етапи на ЛБ, са серологичните тестове, използващи двустъпков протокол. Двустъпковият протокол включва първоначален скрининг с имуноензимен метод (ELISA) за откриване на антитела от класовете ИгМ и ИгГ срещу *Borrelia burgdorferi sensu lato*, последван от Уестърн блот (имуноблот) при положителните или гранични от скрининга серумни проби. Имуноблотът не е подходящ като скринингов метод, тъй като се понижава специфичността. Серопозитивността за ИгМ и ИгГ антитела срещу *Borrelia spp*, асоциирани с ЛБ, може да продължи от месеци до години след отстраняване на инфекцията.

При съмнение за невроборелиоза се изследват серумна и ликворна проба, взети по едно и също време, за да се търси интратекална синтеза на специфичните антитела (Таблица 46).

Трябва да се отчита фактът, че в ранните стадии на ЛБ серологичните тестове могат да бъдат фалшиво-отрицателни поради забавената антитяло синтеза, характерна за болестта. Фалшиво-положителни резултати могат да се получат при автоимунни заболявания, инфекция с вируса на Ебщайн-Бар, ревматоиден артрит, множествена склероза и др. Затова тестването с имуноблот е силно препоръчително. Нивата на специфичните антитела в серума могат да останат повишени в продължение на месеци и години след адекватното лечение и пълното клинично оздравяване на пациента.

Литература

1. Baranton G, Postic D, Saint Giron I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assous M, et al (1992) Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. Int J Syst Bacteriol 42: 378-383.
2. Van Dam AP, Kuiper H, Vos K, Widjojokusumo A, Jongh B-M, Spanjaard I, et al. (1993) Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme borreliosis. Clin Infect Dis 17: 708-717.
3. Balmelli T, Piffaretti GC (1995) Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Res Microbiol 146: 329-340.

15.2. Марсилска треска (Средиземноморска петниста треска)

15.2.1. Етиологичен причинител, епидемиология, клинична картина и етиотропно лечение

Марсилската треска (МТ), известна още като Средиземноморската петниста треска (СПТ), е рикетсиоза, която спада към групата на т.нар. кърлежови петнисти трески (КПТ) (Schoeler G. Et al., 2005; Parola P. & Raoult D., 2001). Причинява се от *Rickettsia conorii*. Типичен представител на α 1-подгрупа на род *Rickettsia* от сем. *Rickettsiaceae* (Parola P., 2005; Cowan G., 2009). През 2005 г. на базата на геномно секвениране видът *R. conorii* е разделен на следните подвидове: *R. conorii conorii* (средиземноморска петниста треска), *R. conorii israelensis* (израелска петниста треска), *R. conorii iindica* (индийски кърлежов тиф), *R. conorii caspia* (астраканска петниста треска) (Roveru et al., 2008). Облигатен вътреклетъчен Грам (-) патоген, който се развива в цитоплазмата и ядрото на еукариотните клетки (Jenseni M., 2004). Инфекциозният агент е обвит в трислойна клетъчна мембрана с повърхностни белтъчни антигени, означени като gOmpA и gOmpB , които са видово специфични за групата на КПТ (Fournier P.&Raoult D., 2004).

Основен резервоар и вектор на *R. conorii* е кърлежът *Rhipicephalus sanguineus* (кучешки кърлеж), в който рикетсията се предава трансфазово и трансвариално до 4-то поколение (Beati L. et al., 1996; Cowan G. et al, 2009). Ареалите на разпространение на този вид кърлеж съвпадат с тези на разпространение на МТ (Parola P.&Raoult D., 2001). Освен *Rh. sanguineus* на територията на някои държави са установени и други видове

кърлежи, които са преносители на МТ: *D. marginatus*, *D. Reticulatus* и *I. ricinus* (Raoult D. et al., 1996).

Човек се заразява с *R. conorii* по няколко начина: 1) трансмисивно – през кожата при ухапване от кърлеж; 2) контактно – през лигавиците на носа, очите и др. и 3) инхалаторно – при единични случаи. Наблюдават се спорадични заболявания или малки огнищни епидемии. Болестта има лятна сезонност. Водещият патологичен процес при МТ е васкулитът на малките кръвоносни съдове, предизвикан от *R. conorii*. Той е в основата на характерните за инфекцията обрив и некротично-възпалителни изменения в мястото на ухапването (т. нар. „черно петно – tache noire”). Честотата на появата му варира 30 - 50% (Choi Y. et al., 2005; Sarih M. et al., 2008).

Инкубационният период на МТ – времето от кърлежовото ухапване до първите симптоми на болестта, продължава 4-7 дни. Началото на заболяването е остро, с висока температура (39-40°C), втрисане, изразено главоболие и болки в ставите и мускулите, силна отпадналост, възможно гадене и повръщане. Обривът е характерен белег за МТ и е с диагностично значение. Появява се най-често 3-5 дни от началото на заболяването (Kemper C. et al., 1992; Raoult D. et al., 1992; Elston D., 2010). Фебрилитетът, обривът и черното петно формират характерната клинична триада на заболяването.

При обективното изследване освен обрива и черното петно се установява конюнктивит, регионерен лимфаденит, хепатомегалия при 50% от случаите, спленомегалия при 25% и брадикардия. При повечето заболели има тромбоцитопения. Много честа находка е умереното увеличаване на аминотрансферазите (Drancourt M. et al., 1990).

Допълнително като усложнения се описват още енцефалит, серозен менингит, бронхопневмония, миокардит, неврит на зрителния нерв, бъбречна недостатъчност и др. (Schoeler G. et al., 2005; Rovey C. et al., 2008; Duque V. et al., 2012).

В последните години се наблюдавано тежко протичане на МТ при възрастни хора с леталитет до 2,5% (Raoult D. et al., 1986).

Клиничната диагноза на МТ е особено важна за своевременното начало на емпиричната антибиотична терапия. Тя трябва да се базира на епидемиологичните данни за контакт с куче или кърлежова експозиция и клиничната картина: неповлияваща се температура, характерен пъпчест обрив, вкл. по дланите и стъпалата, и tache noire (незадължително) (Brouqui P. et al., 2007; Silaghi C. et al., 2011). Стандартният антибиотичен режим включва използването на доксициклин (Raoult D. & Drancourt M., 1991). В последните години се използват и флуорираните хинолони (ципрофлоксацин, пефлоксацин). Макролидите са също обещаващи препарати поради добрата им ефективност и поносимост от деца и бременни (Raoult D. et al., 1992; Cascio A. et al., 2001, 2002; Parola P., 2005).

15.2.2. Събиране, съхранение и транспортиране на подходящ клиничен материал за изследване за МТ

За целта се изследват следните клинични материали: цяла кръв, серум, плазма, биопсичен материал от кожни обриви, отстранени органи, преди антибиотичната терапия, кърлежи във всички фази на развитието им. Инфектирана с *R. conorii* клетъчна култура и/или супернатанта също може да бъде доказана (Таблица 47).

Клиничните материали за изследване на МТ се приемат в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури“ към Националния Център по Заразни и Паразитни Болести, гр. София, само ако са надлежно опаковани (без разкъсана опаковка и липса на видими белези за изтичане на материал), както и съпроводени със съответните документи, съдържащи информация за пациента, диагноза, проведено лечение, клиничен материал, назначени изследвания и лекуващ лекар.

Таблица 47. Видове клинични материали за изследване за МТ, начини на събиране и условия за съхранение и транспортиране

Диагностична процедура	Подходящ клиничен материал	Начини на събиране, температура на съхранение, оптимално време на транспортиране	Използвана литература
Серологични и методи (MIF, ELISA, РСК, Westernblot тест)	Серум	<ul style="list-style-type: none"> - Стерилни контейнери, SST (за серум), ≤ 2 часа на стайна температура, а до 7 дни в хладилна верига на 2 – 4°C; - Стерилни контейнери със серум могат да се съхраняват на -20°C за няколко месеца. 	Raoult D et al., 1985; Raoult D. & Dasch G., 1989; Babalis T. et al., 1993; Drancourt M et al., 1992

Таблица 47. (продължение)

Диагностич на процедура	Подходящ клиничен материал	Начини на събиране, температура на съхранение, оптимално време на транспортиране	Използвана литература
Доказване на инфекц иозна нуклеи нова кисели на (NAAT) (конвенцион ален PCR, realtime PCR)	Цяла кръв	<ul style="list-style-type: none"> - EDTA или цитратни епруветки. - За ≤ 2 часа на стайна температура, до 24 часа кръвните проби за доказване на инфекциозна нуклеинова киселина (NAAT-конвенционален PCR, realtime PCR) се съхраняват и транспортират в хладилна верига на $4 - 5^{\circ}\text{C}$ 	Walker D. & Gear J., 1985; Choi Y. Et al., 2005; Bechah Y. et al., 2011; Maggi R. et. al., 2014
	Плазма	<ul style="list-style-type: none"> - Клиничните материали за изследване трябва да са взети преди антибиотикотерапията 	
	Биопсичен материал	<ul style="list-style-type: none"> - EDTA или PPT (плазма отделящи епруветки), ≤ 2 часа на стайна температура, а до 7 дни в хладилна верига на $2 - 4^{\circ}\text{C}$ 	
	Отстранени органи	<ul style="list-style-type: none"> - Стерилни контейнери, ≤ 2 часа на стайна температура, до 24 часа биопсичен материал се съхранява и транспортира в хладилна верига на $4 - 5^{\circ}\text{C}$ 	
Биопсичен материал от черното петно (tache noir)	<ul style="list-style-type: none"> - Стерилни контейнери, до 2 часа на отстранени органи се съхраняват и транспортират в хладилна верига на $4 - 5^{\circ}\text{C}$, за 7 – 10 дни при температура -25°C - Стерилни контейнери, < 2 часа на стайна температура, до 24 часа в хладилна верига на $4-8^{\circ}\text{C}$, за 7 – 10 дни при температура -25°C - Клиничните материали за изследване трябва да са взети преди антибиотикотерапията 		

Таблица 47. (продължение)

Доказване на инфекциозна нуклеинова киселина (NAAT)	Кърлежи (във всички фази на развитие)	- Стерилни контейнери, ≤ 2 часа на стайна температура, до 24 часа в хладилна верига на 4 – 8°C	Babalis T. et al, 1994; Senneville E. et al., 1991; Beati L. et al., 1996
Култивиране на <i>R. conorii</i> в клетъчни култури	Плазма Биопсичен материал от кожни обриви	- Стерилни контейнери, < 2 часа на стайна температура - Стерилни контейнери, < 2 часа на стайна температура	Kelly P. et al., 1991; La Scola B. & Raoult D., 1996

15.2.3. Етиологична диагностика на МТ

Рутинната лабораторна диагностика на *R. conorii* се основава на серологични методи за доказване на антитела от класовете IgM, IgG и IgA срещу *R. conorii* (Таблица 47). Тази методика е подходяща и за разграничаване на остра (настояща) от прекарана инфекция. Най-често използваните серологични методи са микроимунофлуоресценция (MIF) (златен стандарт), реакция за свързване на комплемента (РСК), ELISA (аналогична на MIF), Westernblot тест (с висока чувствителност и специфичност), аглутинация и др. Специфични *R. conorii* IgM антитела при болни с МТ са налични обикновено 5-7 дни от началото на инфекцията. През втората седмица се появяват IgG антителата. Диагнозата МТ се потвърждава при наличие на антитела от клас IgM в първа серумна проба взета в първите 5-7 дни след поява на симптомите и втора серумна проба след 2 седмици с 4-кратно нарастване на титъра на IgG антитела в проби взети по време на острата и възстановителната фаза на инфекцията. При липса на четирикратно нарастване на титрите на антителата след 4 седмици се взема трета серумна проба. Имунитетът при МТ, както и при останалите КПТ, е добре изразен и продължителен. Наличие на защитен имунитет срещу *R. conorii* вследствие на преболедуване се определя от персистиране на антитела клас IgG.

По време на острата фаза на *R. conorii* инфекцията, клинична проба (цяла кръв, в редки случаи серум, биопсичен материал, отстранени органи, кърлежи и др.), взета в първите дни на инфекцията, преди появата на IgM антителата и преди прилагане на антибиотично лечение, може да бъде тествана за доказване наличие на инфекциозна *R. conorii* нуклеинова киселина (NAAT) (Таблица 47). Този метод е много специфичен и чувствителен. Техниката позволява и количествена оценка на инфекцията.

Положителен NAAT резултат за доказване на наличие в клиничната проба на *R. conorii* ДНК или на инфекциозна ДНК от групата на КПТ е маркер за остра (настояща) инфекция. Такова изследване за страната се извършва в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури“ към Националния Център по Заразни и Паразитни Болести (НЦЗПБ).

Инфекциозният агент *R. conorii* може да бъде изолиран също чрез култивиране в подходяща клетъчна култура и доказан успешно чрез NAAT, но поради неговата висока инфекциозност се изисква оборудване и работа в лаборатория с III-то ниво на биологична безопасност. Диагностичният отговор обаче се получава относително бавно – 10-15 дни след започване на изследването, поради което се прилагат само в отделни клинични случаи, както и с научни цели.

Литература

1. Schoeler G, Moron C, Richards A, Blair P, Olson J. Human spotted feverrickettsial infections. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(4):622-624.
2. Parola P., Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin. Infect Dis.* 2001; 32: 897–928
3. Parola P, Paddock C, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *ClinMicrobiol Rev.* 2005; 18: 719-756.
4. Cowan G, Friman G., Günther G. Rickettsial infections. Manson`s Tropical Disease (22nd Ed.). Saunders Ltd., Philadelphia, USA. 2009; 885-902.
5. Rovey C, Brouqui P, Raoult D. Questions on Mediterranean spotted fever acentury after its discovery. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(9):1360-1367.
6. Jensenius M, Fournier P, Raoult D. Rickettsioses and the international traveler. *ClinInfect Dis.* 2004; 39: 1493-1499.
7. Beati L, Roux V, Ortuno A, Castella J, Porta F, Raoult D. Phenotypic and genotypic characterization of spotted fever group *Rickettsiae* isolated from Catalan *Rhipicephalussanguineus* ticks. *J ClinMicrobiol.* 1996; 34(11): 2688-2694.
8. Raoult D., Brouqui P, Roux V. A new spotted-fever-group rickettsiosis. *Lancet*1996;348:412.
9. Choi Y, Jang W, Kim J, Ryu J, Lee S, Park K, Paik H, Koh Y, Choi M, Kim I. Spotted fever group and typhus group rickettsioses in humans, South Korea. *Emerg InfectDis.* 2005;11: 237-244
10. Sarih M, Socolovschi C, Boudebouch N, Hassar M, Raoult D, Parola P. Spotted fever group rickettsiae in ticks, Morocco. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1067-1073.
11. Kemper C, Spivack A, Deresinski S. Atypical Papulovesicular Rash Due to Infection with *Rickettsia conorii*. *Clin Infect Dis.* 1992; 15(4): 591-594.
12. Raoult D, H. Tissot-Dupont P, Caraco P, Brouqui M, Drancourt, Charrel C. Mediterranean spotted fever in Marseille: descriptive epidemiology and the influence climatic factors. *Eur J Epidemiol.* 1992;8:192–197.
13. Elston D. Tick bites and skin rashes. *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23(2):132-138.
14. Drancourt M, Brouqui P, Chiche G, Raoult D. Acute pericarditis in Mediterranean spotted fever. *Trans R Soc Trop Med Hyg.,* 1991; 85:799.

15. Duque V, Ventura C, Seixas D, Barai A, Mendonca N, Martins J, da Cunha S, Melico-Silvestre A. Mediterranean spotted fever and encephalitis: a case report and review of the literature. *J Infect Chemother.* 2012;18(1):105-108.
16. Raoult D, Zuchelli P, Weiller P, Charrel C, San Marco J, Gallais H, Casanova P. 1986. Incidence, clinical observations and risk factors in the severe form of Mediterranean spotted fever among patients admitted to hospital in Marseilles 1983–1984. *J. Infect.*, 1986; 12:111–116.
17. Brouqui P, Parola P, Fournier P, Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007;49(1):2-12
18. Silaghi C, Hamel D, Thiel C, Pfister K, Pfeiffer M. Spotted fever group rickettsiae in ticks, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(5):890-892.
19. Raoult D, Drancourt M. Antimicrobial therapy of rickettsial diseases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 2457–2462
20. Cascio A, Colomba C, Antinori S, Paterson D, Titone L. Clarithromycin versus Azithromycin in the treatment of Mediterranean spotted fever in children: a randomized controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2002;34:154–158.
21. Cascio A, Colomba C, Di Rosa D, Salsa L, Di Martino L, Titone L. Efficacy and safety of clarithromycin as treatment for Mediterranean spotted fever in children: a randomized controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2001; 33(3): 409-411.
22. Babalis T, Dupont H, Tselentis Y, Chatzichristodoulou C, Raoult D. Rickettsia conorii in Greece: comparison of a microimmunofluorescence assay and western blotting for seroepidemiology. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;48(6):784–792.
23. Drancourt M, George F, Brouqui P, Sampol J, Raoult D. Diagnosis of Mediterranean spotted fever by indirect immunofluorescence of *Rickettsia conorii* in circulating endothelial cells isolated with monoclonal antibody-coated immunomagnetic beads. *J Infect Dis.* 1992;166(3):660–663.
24. Raoult D. & Dasch G. Line blot and western blot immunoassays for diagnosis of Mediterranean spotted fever. *J Clin Microbiol.* 1989;27(9):2073–2079.
25. Raoult D, De Micco C, Chaudet H, Tamalet J. Serological diagnosis of Mediterranean spotted fever by the immunoperoxidase reaction. *Eur J Clin Microbiol.* 1985;4(4):441–442
26. Maggi R, Birkenheuer A, Hegarty B, Bradley J, Levy M, Breitschwerdt E. Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasites Vectors.* 2014; 7: 127.
27. Walker D, Gear J. Correlation of the distribution of Rickettsia conorii, microscopic lesions, and clinical features in South African tick bite fever. *Am J Trop Med Hyg.* 1985; 34: 361–371.
28. Bechah Y, Socolovschi C, Raoult D. Identification of rickettsial infections by using cutaneous swab specimens and PCR. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:83–86.
29. Babalis T, Tselentis Y, Roux V, Psaroulaki A, and Raoult D. 1994. Isolation and identification of a rickettsial strain related to *Rickettsia massiliae* in greek ticks. *Am J Trop Med Hyg.* 1994; 50:365–372.
30. Senneville E, Ajana F, Lecocq P, Chidiac C, Mouton Y. *Rickettsia conorii* isolated from ticks introduced to northern France by a dog. *Lancet.* 1991; 337: 676

31. Kelly P, Raoult D, Mason P. Isolation of spotted fevergroup rickettsias from triturated ticks using a modification of the centrifugation-shell vial technique. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991;85:397–398.

32. La Scola B, Raoult D. Diagnosis of Mediterranean spotted fever by cultivation of *Rickettsia conorii* from blood and skin samples using the centrifugation-shell vial technique and by detection of *R. conorii* in circulating endothelial cells: a 6 year follow-up. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; 34:2722–2727.

15.3. Ку-треска

15.3.1. Етиологичен причинител, епидемиология, клинична картина и етиотропно лечение

Ку-треската е зооантропоноза с глобално разпространение, която се причинява от етиологичния агент *Coxiella burnetii*. Коксиелите са облигатни вътреклетъчни микроорганизми, със структура и организация на Грам-отрицателни бактерии, при които е налице фазова вариация в развитието (Raoult D. & Marrie T., 1995). Гостоприемниковият обхват на възприемчивите на инфекцията видове е твърде широк, като включва голям брой диви и домашно отглеждани бозайници, птици и земноводни, а способността на кърлежите да съхраняват и предават като вектори инфекциозния агент се свързва с формирането и поддържането за продължителен период от време на природни огнища (Porter S. et al., 2011). Домашните животни и птици са основни източници на зараза за човека (Raoult D. & Marrie T., 1995; Higgins D. & Marrie T., 1990). Човек се заразява с *C. burnetii* по инхалаторен, алиментарен, контактен път и по-рядко трансмисивно (Arricau-Bouvery N. & Rodolakis A., 2005). Основен механизъм за предаване на Ку-треската е аерогенният (Tissot-Dupont et al., 2004). Ку-треската се разпространява както спорадично, под формата на епизоотични взривове, така и като епидемии. Характерна особеност на инфекцията е нейната уникално ниска инфектираща доза, поради което *C. burnetii* е включена в категория „В” в списъка на потенциалните биологични оръжия (Kagawa et al., 2003).

Инфекцията при хората варира в извънредно широки граници на протичане (от безсимптомни до фатално завършващи случаи) и по своя естествен ход тя бива остра и хронична (Maurin M. & Raoult D., 1999). Инкубационният период е средно 8 - 15 дни, а понякога до 30 дни. В около 60% от случаите е налице безсимптомно протичане (Fournier P. et al., 1998; Arricau-Bouvery N. & Rodolakis A., 2005). В 40% клинично проявените случаи протичат като леко самоограничаващо се фебрилно заболяване (Arricau-Bouvery N. & Rodolakis A., 2005), а останалите като първична атипична пневмония (ПАП) (30 - 63%) (Maurin M. & Raoult D., 1999; Daya M. & Nakamura Y., 2005) или грануломатозен хепатит (Tjwa M. et al., 2001).

При болни с остра форма на Ку-треска грипоподобната форма на заболяването е най-честата клинична проява. В повечето случаи фебрилната реакция е придружена с главоболие, втрисане и миалгия. Клинико-лабораторните промени най-често се проявяват с левкопения, олевяване, еозинопения и тромбоцитопения. СУЕ е умерено

увеличена. Поради неспецифичността на клиничните прояви на заболяването за Ку-треска трябва да се мисли при всеки фебрилен пациент със съответна епидемиологична анамнеза (Maurin M. & Raoult D., 1999; Aricau-Bouvery N. & Rodolakis A., 2005).

Белодробната форма (пневморикетсиозата) е втората по честота клинична изява. При по-голяма част от пациентите с остра пневмония, предизвикана от *C. burnetii*, се установява повишена температура, втрисане, главоболие и обилно изпотяване. Физикалната находка е твърде оскъдна. Усложненията при Ку-треската във връзка с развитие на атипична пневмония са редки. Те включват: енцефалит, миокардит, бъбречна недостатъчност, хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ) и др. (Marrie T., 1995; Daya M. & Nakamura Y., 2005).

Като късна проява на острата форма на Ку-треска се описват единични случаи с енцефалит, менингоенцефалит и енцефаломиелит (Drancourt M. et al, 1991).

Особено внимание заслужава персистиращата форма на инфекция с *C. burnetii*, която протича тежко, с висок леталитет (10 – 60%) в зависимост от диагностиката и проведеното лечение (Honarmand H., 2012). Развива се при 5% от случаите в периода 1 – 20 г. след острата инфекция с *C. burnetii*. Ку-рикетсиозните ендокардити са най-честата форма на хронична инфекция (60 – 70%), като особено рискови са пациентите с клапни и съдови увреждания (Moguet A. et al., 2007). Миокардитът е рядка, но животозастрашаваща клинична проява. Среща се в 0,5 - 1% от етиологично доказаните случаи (Marrie T. & Raoult D., 1997).

При потвърждаване на диагноза Ку-треска е задължително антибиотичното лечение с препарати от групата на тетрациклините (доксциклин), хинолоните или макролидите. Използват се обикновено комбинация от антибиотици, лечението трябва да продължи поне 2-3 седмици, да бъде в ефективни дози и по лекарско предписание (Tissot-Dupont H. & Raoult D., 2008; Honarmand H., 2012).

15.3.2. Събиране, съхранение и транспортиране на подходящ клиничен материал за изследване за Ку-треска

За целта се изследват следните клинични материали: цяла кръв, серум, плазма, CSF (ликвор), биопсичен материал, хирургически отстранени сърдечни клапи, клапни протези, аневризми, съдови присадки, мляко, костен мозък, плацента, отстранени органи, взети преди антибиотичната терапия, както и кърлежи от всички видове и фази на развитие (Таблица 48).

Клиничните материали за изследване за Ку-треска се приемат в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури“ към Националния Център по Заразни и Паразитни Болести, гр. София, само ако са надлежно опаковани (без разкъсана опаковка и липса на видими белези за изтичане на материал), както и съпроводени със съответните документи, съдържащи информация за пациента, диагноза, проведено лечение, вид на клиничния материал, назначени изследвания и лекуващ лекар.

Таблица 48. Видове клинични материали за изследване за Ку-треска, начини на събиране и условия за съхранение и транспортиране

Диагностична процедура	Подходящ клиничен материал	Начини на събиране, температура на съхранение, оптимално време на транспортиране	Използвана литература
Доказване на инфекциозна нуклеинова киселина (NAAT) (PCR, realtime PCR)	Цяла кръв	<ul style="list-style-type: none"> - Епруветки с EDTA или с цитрат - За ≤ 2 часа на стайна температура, до 24 часа кръвните проби за доказване на инфекциозна нуклеинова киселина (конвенционален PCR, realtime PCR) се съхраняват и транспортират в хладилна верига на 4-5⁰C - Клиничните материали за изследване трябва да са взети преди антибиотикотерапията 	Fournier P. et al., 1998; Fournier P. & Raoult D., 2003; Klee S. et al., 2006; Schneeberger P. et al., 2010; Honarm and H., 2012

Таблица 48. (продължение)

Диагностична процедура	Подходящ клиничен материал	Начини на събиране, температура на съхранение, оптимално време на транспортиране	Използвана литература
Доказване на инфекциозна нуклеинова киселина NAAT	Кърлежи (във всички фази на развитие)	- Стерилни контейнери, ≤ 2 часа, на стайна температура, до 24 часа в хладилна верига на 4 – 8 ⁰ С	Rehacek J. et al., 1991; Maurin M. & Raoult D., 1999
Култивиране на <i>C. burnetii</i> в клетъчни култури	Цяла кръв Плазма	- Епруветки с EDTA или цитрат, < 2 часа на стайна температура - Стерилни контейнери, < 2 часа на стайна температура	Lockhart M. et al., 2012

15.3.3. Етиологична диагностика на Ку-треска

Рутинната диагностика на Ку-инфекцията се основава на серологично изследване и доказване на антитела към фаза I (PhI) и фаза II (PhII) на *Coxiella burnetii* (Виж Таблица 48). Тази методика е подходяща и за разграничаване на остра от хронична инфекция. Пациенти с остра Ку-треска обикновено продуцират антитела предимно към фаза II антигена, докато при хронична Ку-треска обикновено се произвеждат антитела към фаза I антигена. Най-често използваните серологични методи са индиректна имунофлуоресценция (ИФ) (златен стандарт), комплеметна фиксация и ELISA (съпоставим с ИФ). Специфични *C. burnetii* IgM PhII антитела при болни с атипична пневмония или с неясно фебрилно състояние са налични обикновено 2 - 4 седмици след началото на инфекцията. Отрицателният ELISA тест срещу *C. burnetii* IgM PhII антитела през първите седмици от началото на симптомите не изключва диагнозата Ку-треска. Сероконверсията обикновено се открива 10 - 20 дни след появата на клиничните симптоми. Известно е, че антителата IgM/IgG към антигенна фаза I и II на *C. burnetii* остават завишени в продължение на месеци, а в редки случаи и няколко години след първичната инфекция. Диагнозата „остра Ку-треска“ се потвърждава при наличие на антитела от клас IgM PhII в първа серумна проба взета в първите 10 дни след поява на симптомите и втора серумна проба след 3 – 6 седмици с 4-кратно нарастване на титъра на *C. burnetii* IgG PhII антитела в проби взети по време на острата и възстановителната фаза на инфекцията. Имунитетът при Ку-треската е добре изразен и продължителен. Наличие на защитен имунитет срещу *C. burnetii* в следствие на преболедуване се определя от персистиране на антитела клас IgG PhII.

По време на острата фаза на Ку-инфекцията, клинична проба (цяла кръв, в редки случаи серум, биопсичен материал, резекционни сърдечни клапи и др.), взета до 2 - 4 седмици след заразяването, преди прилагане на антибиотично лечение, може да бъде тествана за доказване наличие на инфекциозна *C. burnetii* нуклеинова киселина (NAAT) (Таблица 48). Този метод е много специфичен и чувствителен. Техниката позволява и

количествена оценка на инфекцията. Положителен NAAT резултат за доказване на наличие в клиничната проба на *C. burnetii* ДНК е маркер за остра (настояща) инфекция. Такова изследване за страната се извършва в НРЛ „Рикетсии и клетъчни култури“ към Националния Център по Заразни и Паразитни Болести (НЦЗПБ).

Инфекциозният агент *C. burnetii* може да бъде изолиран също чрез култивиране в подходяща клетъчна култура и доказан успешно чрез NAAT, но поради неговата висока инфекциозност се изисква оборудване и работа в лаборатория с III-то ниво на биологична безопасност. Културелните методи са относително бавни – от няколко дни до седмици, поради което се прилагат само в отделни клинични случаи, както и с научни цели.

Литература

1. Raoult D, Marrie T. Q fever. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 20(3): 489–496.
2. Porter SR, Czaplicki G, Mainil J, Guatteo R, Saegerman C. Q fever: current state of knowledge and perspectives of research of neglected zoonosis. *Int J Microbiol*. 2011; 248418.
3. Higgins D & Marrie T. Seroepidemiology of Q fever among cats in New Brunswick and Prince Edward Island. *Ann N Y Acad Sci*. 1990; 590: 271-274.
4. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or reemerging zoonosis? *Vet Res*. 2005; 36(3): 327-349.
5. Tissot-Dupont, H., M. Amadei, M. Nezri, D. Raoult. Wind in November. Q fever in December. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10, 1264 – 1269.
6. Kagawa, F, Wehner J, Mohindra V. Q fever as a biological weapon. *Eur PMC*2003; 18: 183-195.
7. Fournier P, Marrie T, Raoult D. Diagnosis of Q fever. *J Clin Microb*. 1998; 36: 1823-34.
8. Daya M, Nakamura Y. Pulmonary disease from biological agents: anthrax, plague, Q fever, and tularemia. *Crit Care Clin*. 2005; 21(4): 747-763.
9. Tjwa M, De Hertogh G, Neuville B, Roskams T, Nevens F, Van Steenberghe W. Hepatic fibrin-ring granulomas in granulomatous hepatitis: report of four cases and review of the literature. *Acta Clin Belg*. 2001; 56, 341–348.
10. Marrie T. *Coxiellaburnetii* pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1995; 21(3): S253-S264.
11. Honarmand H. Q fever: An old but still a poorly understood disease. *InterdPersp InfectDis*. 2012; 131932.
12. Morguet A, Jansen A, Raoult D, Schneider T. Late relapse of Q fever endocarditis. *Clin ResCardiol*. 2007; 96: 519–524.
13. Marrie T, Raoult D. Q fever—a review and issues for the next century. *Int J Antimicrob Agents*. 1997; 8: 145–161.
14. Tissot-Dupont H, Raoult D. Q fever. *Infect Dis Clin North Am*. 2008; 22(3): 505-514.
15. Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 12(4): 518-553.
16. Stein A, Raoult D. Detection of *Coxiellaburnetii* by DNA amplification using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992; 30(9): 2462-2466.
17. Schneeberger P, Hermans M, Van Hannen E, Schellekens J, Leenders A, Wever P. Real-Time PCR with serum samples is indispensable for early diagnosis of acute Q fever. *J Clin Microbiol*. 2010; 17(2): 286–290.

18. Fournier P, Raoult D. Comparison of PCR and serology assay for early diagnosis of acute Q fever. *J Clin Microbiol.* 2003;41(11):5094–5098.
19. Klee S, Tyczka K, Ellerbrok H, Franz T, Linke S, Baljer G. Highly sensitive real-time PCR for detection and quantification of *Coxiellaburnetii*. *BMC Microbiol.* 2006; 6: 2.
20. Prasad B, Chandiramani N, Wagle A. Isolation of *Coxiellaburnetii* from human sources. *Int J Zoonoses* 1986; 13: 112-117.
21. Tissot-Dupont H, Thirlon X, Raoult D. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994; 1:189–196 .
22. Hamzic S, Beslagic E, Zvizdic S. Significance of Q fever serologic diagnosis in clinically suspect patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990: 365-368.
23. Slabá K, Skultéty L, Toman R. Efficiency of various serological techniques for diagnosing *Coxiellaburnetii* infection. *Acta Virol* 2005; 49: 123-127.
24. Meekelenkamp J, Schneeberger P, Wever P, Leenders A. Comparison of ELISA and indirect immunofluorescent antibody assay detecting *Coxiellaburnetii* IgM phase II for the diagnosis of acute Q fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31: 1267-1270.
25. Rehacek J, Urvolgyi J, Kocianova E, Sekeyova Z, Vavrekova M, Kovacova E. Extensive examination of different ticks species for infestation with *Coxiellaburnetii* in Slovakia. *Eur J Epidemiol.* 1991;7:299–303.
26. Lockhart M, Islam A, Fenwick S, Graves S, Stenos J. Comparative sensitivity of 4 different cell lines for the isolation of *C. burnetii*. *FEMS Microbiol Lett.* 2012;334: 75–78.