

# Диагностика завозного случая лепры в России с использованием серологических методов и бактериоскопии

А.Г.Королёва-Ушакова, Е.В.Баранова, Е.А.Ганина, А.Г.Шевяков, М.В.Храмов, С.Ф.Бикетов, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Лепра – гранулематозное хроническое заболевание, вызываемое *Mycobacterium leprae*, поражающее в первую очередь периферические нервы и кожу, нередко приводящее к инвалидизации. Важнейшим инструментом лабораторного контроля лепры является иммунодиагностика. Нами был получен биологический материал из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» от трех пациентов, один из которых имел явные клинические признаки заболевания лепрой (уроженец Республики Чад, Центральная Африка), два других (контактных) пациента их не имели. Пациенту с клиническими признаками поражения кожи и нервов был поставлен предварительный диагноз «лепра». Позже нами были получены сыворотки от контактных лиц для проведения серологических исследований. В данной работе мы провели иммунодиагностику сывороток данных пациентов в формате иммуноферментного и иммунохроматографического анализов и осуществили микроскопию мазков из носоглотки и пораженных тканей подозрительного по лепре пациента и мазков из носоглотки контактных с ним лиц. В сыворотке крови пациента с характерными для лепры клиническими признаками и у четырех контактных с ним пациентов без клинических признаков обнаружены специфические антитела к *M. leprae* в серологических исследованиях. У одного из пациентов в биоматериале из носоглотки при микроскопии мазка обнаружены специфические фуксинофильные микобактерии.

**Ключевые слова:** иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ, лепра, *Mycobacterium leprae*, фенольный гликолипид-1, серологическая иммунодиагностика, микроскопия

**Для цитирования:** Королёва-Ушакова А.Г., Баранова Е.В., Ганина Е.А., Шевяков А.Г., Храмов М.В., Бикетов С.Ф., Дятлов И.А. Диагностика завозного случая лепры в России с использованием серологических методов и бактериоскопии. Бактериология. 2024; 9(3): 37–45. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-37-45

## Diagnosics a case of leprosy imported to the Russian Federation using serologic methods and bacterioscopy

A.G.Korolyova-Ushakova, E.V.Baranova, E.A.Ganina, A.G.Shevyakov, M.V.Khramov, S.F.Biketov, I.A.Dyatlov

«State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology» of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

Leprosy is a granulomatous chronic disease caused by *Mycobacterium leprae*, primarily affecting the peripheral nerves and skin, often resulting in disability. Immunodiagnosis is the most important tool for laboratory control of leprosy. We received biological material from the Center of Hygiene and Epidemiology in Moscow from three patients, one of whom had obvious clinical signs, the other two patients did not have them. The patient with clinical signs of skin and nerve lesions was given a preliminary diagnosis of leprosy. Later we obtained sera from the contacts for serologic studies in the amount of 37 pieces. In this study, we immunodiagnosed the sera of these patients by ELISA and ICA and performed microscopy of nasopharyngeal and lesion swabs from the nasopharynx of a leprosy-suspect patient and nasopharyngeal swabs from his contacts. Specific antibodies to *M. leprae* were detected in the serum of a patient with clinical signs characteristic of leprosy and in four contact patients without clinical signs in serologic tests. In one of the patients, specific mycobacteria were detected in the nasopharyngeal biomaterial by smear microscopy.

**Key words:** ELISA, immunochromatographic analysis, leprosy, *Mycobacterium leprae*, phenolic glycolipid-1, serological immunodiagnosics, microscopy

**For citation:** Korolyova-Ushakova A.G., Baranova E.V., Ganina E.A., Shevyakov A.G., Khramov M.V., Biketov S.F., Dyatlov I.A. Diagnosics a case of leprosy imported to the Russian Federation using serologic methods and bacterioscopy. Bacteriology. 2024; 9(3): 37–45. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-37-45

### Для корреспонденции:

Королёва-Ушакова Анжела Григорьевна, младший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24  
Телефон: (4967) 36-01-47

Статья поступила 04.03.2024, принята к печати 30.09.2024

### For correspondence:

Anzhela G. Koroleva-Ushakova, Junior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms of State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-01-47

The article was received 04.03.2024, accepted for publication 30.09.2024

**Л**епра – гранулематозное хроническое заболевание, вызываемое *Mycobacterium leprae*, поражающее в первую очередь периферические нервы и кожу, нередко приводящее к инвалидизации [1].

Лепру называют «великим имитатором», способным имитировать многие болезни кожи и периферической нервной системы. Поражение кожи при данном заболевании может быть одиночным или множественным, обычно менее пигментированным, чем окружающая нормальная кожа. Иногда поражение бывает красноватого или медного цвета. Поражения кожи могут быть различными: в виде папул, макул, узелков. Потеря чувствительности является типичным признаком. Утолщенные нервы, главным образом периферические нервные стволы, представляют собой еще одну особенность лепры. Утолщенный нерв часто сопровождается другими признаками в результате повреждения нерва. Это может быть потеря поверхностной чувствительности и слабость мышц, иннервируемых пораженным нервом. Наиболее уязвимы болевые и температурные рецепторы. Вегетативная дисфункция выражается в виде изменения окраски (мраморности, синюшности, пигментации), отечности, сухости, потери эластичности кожи, волос, ослаблении или отсутствии местного и рефлексорного дермографизма, пилomotorного рефлекса. Такой же серьезной проблемой, существенно влияющей на качество жизни, становится образование длительно текущих, плохо поддающихся лечению безболезненных трофических язв, образующихся на подошвенной поверхности стоп [2, 3].

Раннее, опережающее вовлечение в патологический процесс до появления кожных изменений рецепторного аппарата и чувствительных волокон периферических нервов – существенная часть клинической картины лепры. Более того, заболевание может проявляться только в виде невропатий при отсутствии кожных симптомов (чисто невральная форма лепры). При неврологическом осмотре пациента на кожных элементах выявляются «островки» гипестезии, анестезии, лабильных чувствительных расстройств, причинно связанных с локальным поражением сенсорных ветвей кожных нервов. Современные инструменты исследования позволяют с достаточной точностью определить границы зон расстройства чувствительности. Неравномерное поражение мышечного аппарата, преимущественно сгибателей и разгибателей верхних конечностей, изменяет координационный синергизм при сокращении/расслаблении мышц, способствует формированию типичных для больных лепрой деформаций и контрактур (рука «пастера», «когтистая», «обезьянья», «флажковая» кисть, кисть типа «лодочки», «свисающая» стопа). Несмотря на их наличие, потерю тактильной чувствительности, способность выполнять работу, требующую точности движений, не теряется, т.к. глубокая чувствительность сохраняется «поразительно хорошо». В отличие от полиневропатий другого генеза сухожильные и периостальные рефлексы обычно не угасают [3, 4].

Наряду с образованием в костной ткани хронических воспалительных лепрозных гранул развиваются остеопороз, остеолит, деструкция костной ткани, деформация пальцев, обусловленная подвывихами, переломами концевых и основных фаланг. Наиболее выраженные структурные изменения архитектоники костной ткани и суставов имеются у

больных с нейропатической остеоартропатией Шарко, мутиляцией фаланг пальцев кистей и стоп при давлении на передние точки опоры и пятку. Из-за этого и наличия изъязвлений на коже при распаде лепром в дошедших из глубины веков медицинских трактатах больного лепрой называли «человек, гниющий заживо» [5].

В рекомендациях Всемирной организации здравоохранения диагноз «лепра» ставят на основе наличия одного или нескольких из трех признаков: потеря чувствительности в (гипопигментированном) пятне на участках кожи; утолщение периферических нервов с потерей чувствительности, мышечной слабости, связанной с повреждением нерва, иннервирующего этот участок; или присутствие кислотоустойчивых бацилл в гистологическом срезе кожи и определение бактериального индекса – количества кислотоустойчивых бацилл в дерме. Для этого проводится биопсия кожи и мазков с кожных срезов (skin-slit smears), которые используются для непосредственного обнаружения *M. leprae* и позволяют определить бактериальный индекс [1]. Бактериоскопическое исследование имеет решающее значение при получении положительных результатов при подозрении на лепроматозный или погранично-лепроматозный тип [6]. При туберкулоидном и погранично-туберкулоидном типе микобактерии могут не выявиться.

Также в целях диагностики используют лепроминовую пробу, или пробу Митсуды (Мицуды) – показатель способности хозяина поддерживать в своем организме клеточный иммунитет к *M. leprae*. Используют лепромин. Отрицательная реакция Митсуды обычно наблюдается у пациентов с многобактериальным типом лепры и указывает на отсутствие защитного клеточного ответа. Внутрикожная реакция Митсуды состоит из выполнения внутрикожной инъекции антигена лепромин (синтезированного из *M. leprae*) на сгибательной поверхности предплечья. Реакция Митсуды выражает уровень клеточного иммунитета и представляет собой экстеризацию туберкулоидной гранулемы, наблюдаемую при гистопатологических исследованиях. Данная реакция помогает классифицировать клиническую форму заболевания, но не позволяет поставить диагноз. Также применяют функциональные пробы для проверки температурной, тактильной, болевой чувствительности [1].

Для дополнительной диагностики лепры также используется молекулярно-генетический метод (полимеразная цепная реакция), который позволяет подтвердить диагноз лепры наличием ДНК *M. leprae* в очагах поражения [7, 8].

Важнейшим инструментом лабораторного контроля лепры является иммунодиагностика. Клиническая постановка диагноза ранней стадии лепры или олигобациллярной лепры может быть проблематичной. Поэтому в дополнение к вышеуказанным методам были разработаны и другие методы диагностики, такие как иммуноферментный и иммунохроматографический методы анализа (ИФА, ИХА) [9–12]. В частности, во ФБУН ГНЦ ПМБ в 2013 г. был разработан иммунохроматографический серотест для экспресс-диагностики лепры, основанный на химически синтезированном аналоге компонента клеточной стенки – фенольном гликолипиде 1 (ФГЛ-1). Этот серотест был успешно применен в данном исследовании. На основе ФГЛ-1 был осуществлен и ИФА. В наших исследованиях мы осуществили качественное определение со-

держания антител человека IgG, IgM, IgA против *M. leprae* в ИФА и IgM в ИХА и определили наличие кислотоустойчивых микобактерий в скарификатах методом микроскопии.

### Материалы и методы

В работе использовали иммунобиохимические и микроскопические методы. Материалом для исследований послужили сыворотки крови от 40 пациентов, один из которых имел характерные для лепры клинические признаки (остальные 39 – контактные с ним лица, не имевшие клинических признаков), а также биоматериал из носоглотки данных пациентов.

Для исключения ложноположительных результатов исследуемые сыворотки готовили в стерильных условиях, исключая возможность бактериального загрязнения. Каждый образец сыворотки или раствора отбирали новым наконечником.

В работе применяли иммунобиохимические и микроскопические методы исследования. Работы проводились на базе отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Оболенск.

**Проведение иммуноферментного анализа.** Антиген на основе ФГЛ-1 с бычьим сывороточным альбумином (БСА) [13, 14] (получен методом химического синтеза сотрудниками Института органической химии им. Н.Д.Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)) разводили до 0,5 мг/мл в карбонатно-бикарбонатном буфере pH 9,6 («ПанЭко», Россия). По 0,1 мл разбавленного антигена добавляли в лунки 96-луночного планшета (Nunc, MaxiSorp, Дания) и выдерживали в течение ночи при 4°C. Далее промывали планшет фосфатным буфером с твином (ФСБ-Т) 2 раза. Вносили в каждую лунку по 0,2 мл блокирующего реагента (5%-е обезжиренное сухое молоко) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Промывали планшет ФСБ-Т 2 раза. Вносили в лунки планшета сыворотки, разведенные 1:200, и инкубировали 1 ч при 37°C. В лунку планшета А1 вносили 0,1 мл рабочего буферного раствора (ФБР, используется как бланк). Для контроля вносили отрицательную контрольную сыворотку в рабочем разведении (К-) и положительную контрольную сыворотку в рабочем разведении (К+) объемом 0,1 мл. В остальные лунки планшета вносили по 0,1 мл исследуемых сывороток в рабочем разведении. Инкубировали на шейкере 1 ч при 37°C. Промывали планшет ФСБ-Т 3 раза. Вносили в лунки планшета по 0,1 мл рабочего разведения пероксидазного конъюгата кроличьих антител против человеческих Ig (A, G, M) (Sigma, США) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Промывали планшет ФСБ-Т 4 раза. Вносили в лунки планшета по 0,1 мл свежеприготовленного субстратного раствора (двухкомпонентная хромогенная система тетраметилбензидин – субстратный буфер в соотношении 1:1). Ферментативную реакцию останавливали после развития синей окраски добавлением 0,05 мл 1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> («Диам», Россия). Регистрировали оптическую плотность (ОП) раствора при λ = 450 нм с помощью планшетного фотометра («Униплан», «Пикон», Россия). Нулевой уровень (бланк) устанавливали по лунке А1.

**Проведение иммунохроматографического анализа.** Для проведения ИХА использовали набор реагентов для

ускоренной серодиагностики лепры («Серотест Лепра») производства ФБУН ГНЦ ПМБ (РУ от 22 апреля 2014 г. РЗН 2014/1571, серия 11, произведен 26.06.2023). Набор реагентов «Серотест Лепра» предназначен для экспресс-скрининга сыворотки крови человека на наличие специфических антител IgM к возбудителю. В качестве антигенной подложки использовали антиген *M. leprae* на основе ФГЛ-1, конъюгированный с бычьим сывороточным альбумином (получен методом химического синтеза сотрудниками ИОХ РАН).

Набор реагентов представляет собой сборную пластиковую кассету с тест-полоской внутри. Кассета оснащена двумя окошками (приемочное – для исследуемого образца, тестовое – для визуального учета результата). На лицевой стороне кассеты имеется маркировка «Серотест Лепра». Специфические антитела, присутствующие в исследуемой сыворотке крови, взаимодействуют с мечеными золотом антителами к иммуноглобулинам человека класса М, образуя окрашенный комплекс с последующим его накоплением в тестовой зоне. Учет результата проводят визуально. «Серотест Лепра» обеспечивает выявление IgM антител к *M. leprae* в сыворотке крови человека в 70% случаев лепроматозной формы заболевания и в 30% – туберкулоидной формы. Необходимый объем сыворотки крови для проведения одного анализа составляет 10 мкл. Для проведения анализа вскрыли пакет, извлекли необходимое количество тестов и выдержали при комнатной температуре (22 ± 2°C) 15 мин. С помощью пипетки внесли в круглую лунку кассеты не менее 10 мкл исследуемой сыворотки и добавили 0,1 мл ФСБ, pH = 7,4. Время реакции – 20 мин. Интенсивность линий при интерпретации результата (табл. 1) не учитывается.

Далее мы сравнили результаты ИХА с тестами производства ФБУН ГНЦ ПМБ и экспериментальной серией зарубежных ИХ-тестов ML Flow, lot 7/002, 05/2015 IPTSP/UFQ, производства Бразилия. Результат совпал во всех случаях.

**Микроскопия мазков.** Окраску фиксированных над пламенем спиртовки мазков проводили по методу Циля–Нильсена. Для этого использовали «Набор реагентов для окраски срезов и мазков по Цилю–Нильсену» (ООО «Лабико», Санкт-Петербург, Россия). Сначала поместили фиксированные мазки в раствор йодной кислоты на 10 мин, затем промыли в дистиллированной воде и поместили их в карболовый фуксин Циля на 30 мин. Тщательно промыли мазки в нескольких сменах дистиллированной воды и просушили фильтровальной бумагой. Далее использовали диф-

Таблица 1. Интерпретация результатов  
*Table 1. Interpretation of the results*

Положительный результат / <i>Positive result</i>	Наличие видимых глазом двух окрашенных линий в зонах «Т» и «К»/ <i>The presence of two colored lines visible to the eye in the «T» and «K» zones</i>
Отрицательный результат / <i>Negative result</i>	Наличие окрашенной линии только в зоне «К»/ <i>The presence of a colored line only in the «K» zone</i>
Тест не работает / <i>The test does not work</i>	Отсутствие окрашенной линии в зоне «К»/ <i>The absence of a colored line in the «K» zone</i>
Тест не работает / <i>The test does not work</i>	Полное отсутствие окрашенных линий/ <i>Complete absence of colored lines</i>

Таблица 2. Оценка результатов иммуноферментного анализа Table 2. Evaluation of the results of enzyme immunoassay	
КС <0,9 / Serum control <0,9	Отрицательный результат. Указывает, что тестируемый образец не содержит антител к возбудителю лепры либо уровень антител не детектируется / Negative result. <i>Indicates that the test sample does not contain antibodies to the causative agent of leprosy, or the level of antibodies is not detected</i>
КС 0,9-1,1 / Serum control 0,9 1,1	Сомнительный результат «серая зона». Повторить анализ. При повторном получении промежуточного значения отобрать новый образец сыворотки крови у пациента и проанализировать / The dubious result is a «gray zone». Repeat the analysis. <i>Upon repeated receipt of the intermediate value, take a new blood serum sample from the patient and analyze</i>
КС >1,1 / Serum control >1,1	Положительный результат / Positive result

ференцирующий раствор в течение 5 мин с последующим промыванием в нескольких сменах дистиллированной воды. Затем докрашивали мазки метиленовым синим с экспозицией 5 мин и последующим промыванием дистиллированной водой. После удаления излишка влаги провели микроскопическое исследование на микроскопе (Nikon, Eclips 80i, Германия) при рабочем увеличении окуляров ×20 и объектива ×20 (фотонасадка Nikon Digital Imaging Head, Германия).

### Результаты исследования

**Результаты ИФА.** Качество реакции ИФА оценивали при ОП в лунках с отрицательным контролем (ОП К<sub>ср-</sub>) – не более 0,2 оптических единиц (о.е.), а в лунке с положитель-

ным контролем значение ОП (ОП К<sub>ср+</sub>) не менее 0,9 о.е. Результаты анализа (табл. 2) оценивали по коэффициенту серопозитивности (КС), рассчитываемому по формуле:

$$КС = \frac{ОП_{образца}}{ОП_{крит}}, \text{ где } ОП_{крит} = ОП_{К_{ср-}} + 0,1.$$

В сыворотке крови пациента с характерными для лепры клиническими признаками содержались специфические антитела к *M. leprae*. Коэффициент серопозитивности сыворотки данного пациента на подложке с ФГЛ-1 (КС<sub>ФГЛ-1</sub>) составил 2,4. У четырех пациентов из числа контактных коэффициенты серопозитивности составили 1,2; 2,0; 1,15 и 0,97. ИФА сывороток крови данных пациентов показал наличие специфических антител к возбудителю лепры.

**Результаты ИХА.** Все пять сывороток в ИХА с использованием набора для серодиагностики лепры (ФБУН ГНЦ ПМБ) (рис. 1а, в) и набора ML Flow (Бразилия) (рис. 2) имели положительный результат с разной степенью интенсивности окрашивания тестовых полос.

Все остальные сыворотки контактных пациентов (35 сывороток) показали в ИХА отрицательный результат.

**Результаты микроскопии.** У одного из серопозитивных пациентов, не имеющих характерных для лепры клинических признаков, в мазках из носоглотки обнаружены специфические фуксинофильные микобактерии на фоне клеток эпителиальной ткани, окрашенных в голубой цвет (рис. 3).

У другого серопозитивного пациента, не имеющего характерных для лепры клинических признаков, в поле зрения микроскопа на фоне назальной слизи выявлено большое количество базофильно окрашенных кокковых форм бактерий (рис. 4). У третьего серопозитивного пациента, также не имеющего клинических признаков, в мазке обнаружено скопление полиморфноядерных лейкоцитов (рис. 5). У остальных пациентов, в т.ч. с клиническими признаками, специфи-

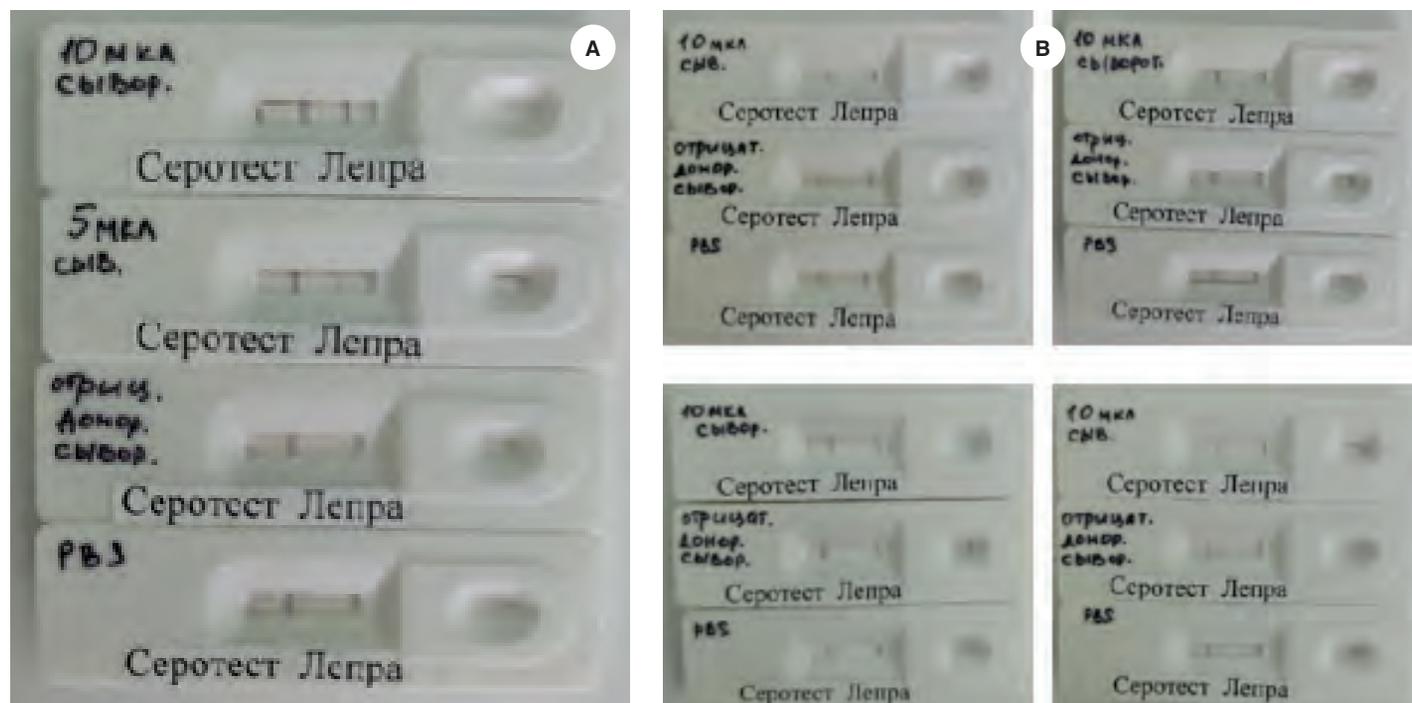


Рис. 1. ИХА с использованием «Серотест Лепра» (ФБУН ГНЦ ПМБ): а) с сывороткой пациента, имеющего характерные для лепры клинические признаки; в) с сыворотками пациентов, не имеющих характерных для лепры клинических признаков.

Fig. 1. Immunochromatographic analysis using Serotest Leprosy (State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology): a) with serum from a patient with clinical signs characteristic of leprosy; b) with serum from patients who do not have clinical signs characteristic of leprosy.

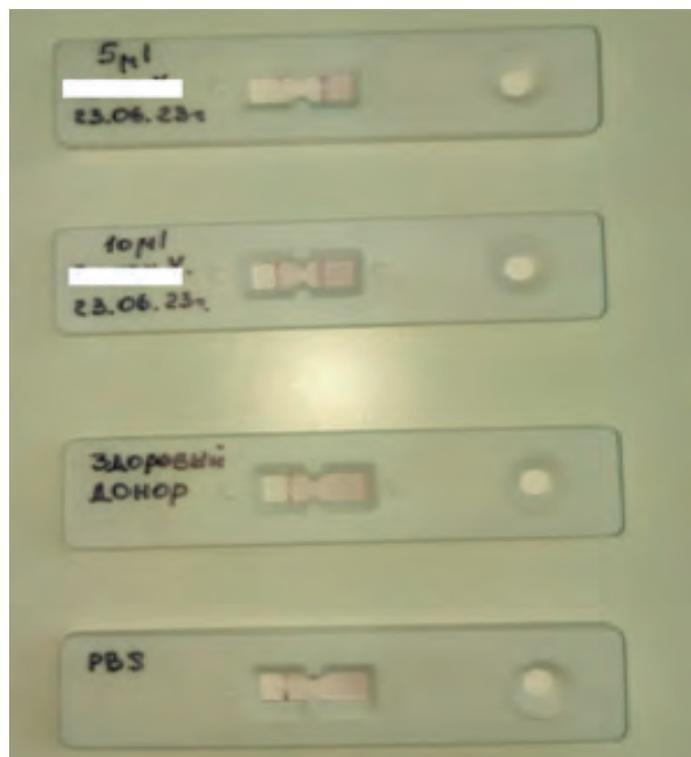


Рис. 2. ИХ-тест (Бразилия) с сывороткой пациента, имеющего характерные для лепры клинические признаки.  
*Fig. 2. Immunochromatographic tests (Brazil) with serum from a patient with clinical signs characteristic of leprosy.*

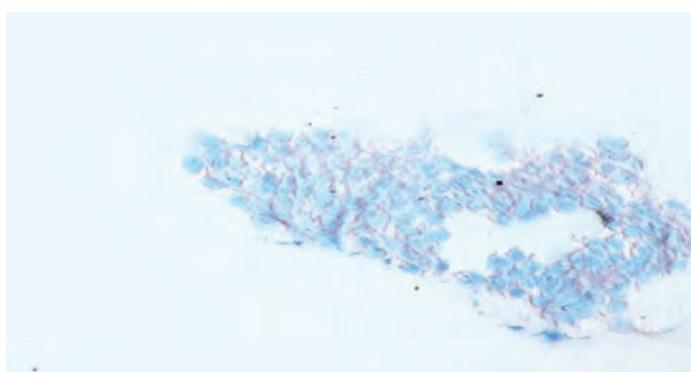


Рис. 3. Специфические фуксинофильные микобактерии на фоне клеток эпителиальной ткани.  
*Fig. 3. Specific fuchsinophilic mycobacteria against the background of epithelial tissue cells.*

ческих фуксинофильных микобактерий в мазках не обнаружено.

Через 5 мес. лечения пациента с подтвержденным диагнозом «лепра (лепроматозная форма)» был осуществлен забор назальной слизи и скарификация пораженных участков кожи (мочки ушей, надбровные дуги, запястье, область локтевого сустава) с последующим нанесением мазков на стекла и окрашиванием их по Цилю-Нильсену. Микроскопию осуществляли на микроскопе «Микмед-6» при рабочем увеличении окуляров  $\times 10$  и объектива  $\times 100$  под иммерсией. По результатам микроскопического исследования во всех мазках были обнаружены специфические фуксинофильные микобактерии на фоне назальной слизи, клеток эпителиальной ткани и полиморфноядерных лейкоцитов, окрашенных в голубой цвет (рис. 6, 7).

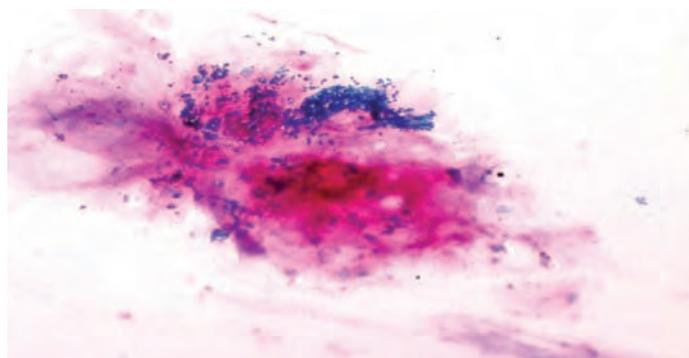


Рис. 4. Кокковые бактерии на фоне назальной слизи.  
*Fig. 4. Coccoid bacteria against the background of nasal mucus.*

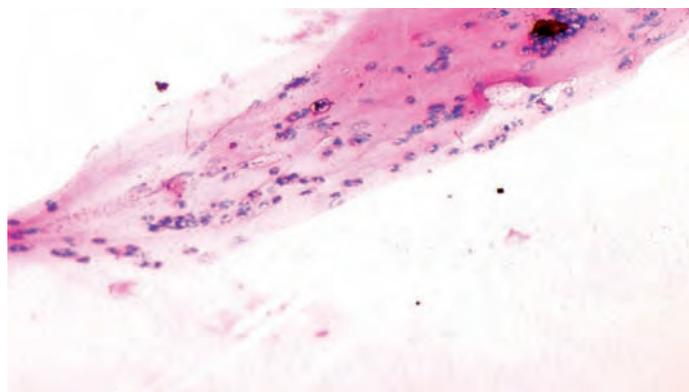


Рис. 5. Скопление полиморфноядерных лейкоцитов.  
*Fig. 5. Cluster of polymorphonuclear leukocytes.*

### Обсуждение

В соответствии с мировой статистикой, 26% подозрительных по лепре пациентов ожидают подтверждения диагноза в течение 8 мес. после первого обращения за первичной медико-санитарной помощью. Задержка или недостоверная диагностика происходит чаще в неэндемичных районах с постоянным притоком мигрантов, где клиницисты редко сталкиваются со случаями лепры и нередко ставят ошибочные диагнозы на ранних стадиях заболевания лепрой. Ясно, что необходимы дополнительные исследования, чтобы понять взаимосвязь путей передачи между резервуаром инфекции и людьми с субклиническими формами инфекции с контактирующими лицами и окружающей средой. Вероятно, лица с субклиническими формами лепры также являются источниками инфекции, в связи с чем ранняя диагностика и своевременно начатое лечение препятствуют передаче возбудителя данного заболевания и развитию инвалидизирующих осложнений [15]. Титры антител против ФГЛ-1 прямо пропорционально коррелируют с прогрессированием лепроматозной формы лепры, неэффективностью лечения или рецидивом уже существующего заболевания. Однако у людей с адекватным иммунным статусом при высоких значениях титров антител при непосредственном контакте с источником заболевания лепра вряд ли разовьется, не считая семейных случаев лепры, при которых, по мнению множества авторов, имеется генетическая предрасположенность к заболеванию [3, 8]. Мета-анализ, проведенный исследователями из Бразилии, показывает, что среди здоровых людей, контактировавших с больными лепрой, риск развития болезни примерно в 3 раза выше у лиц с повышен-

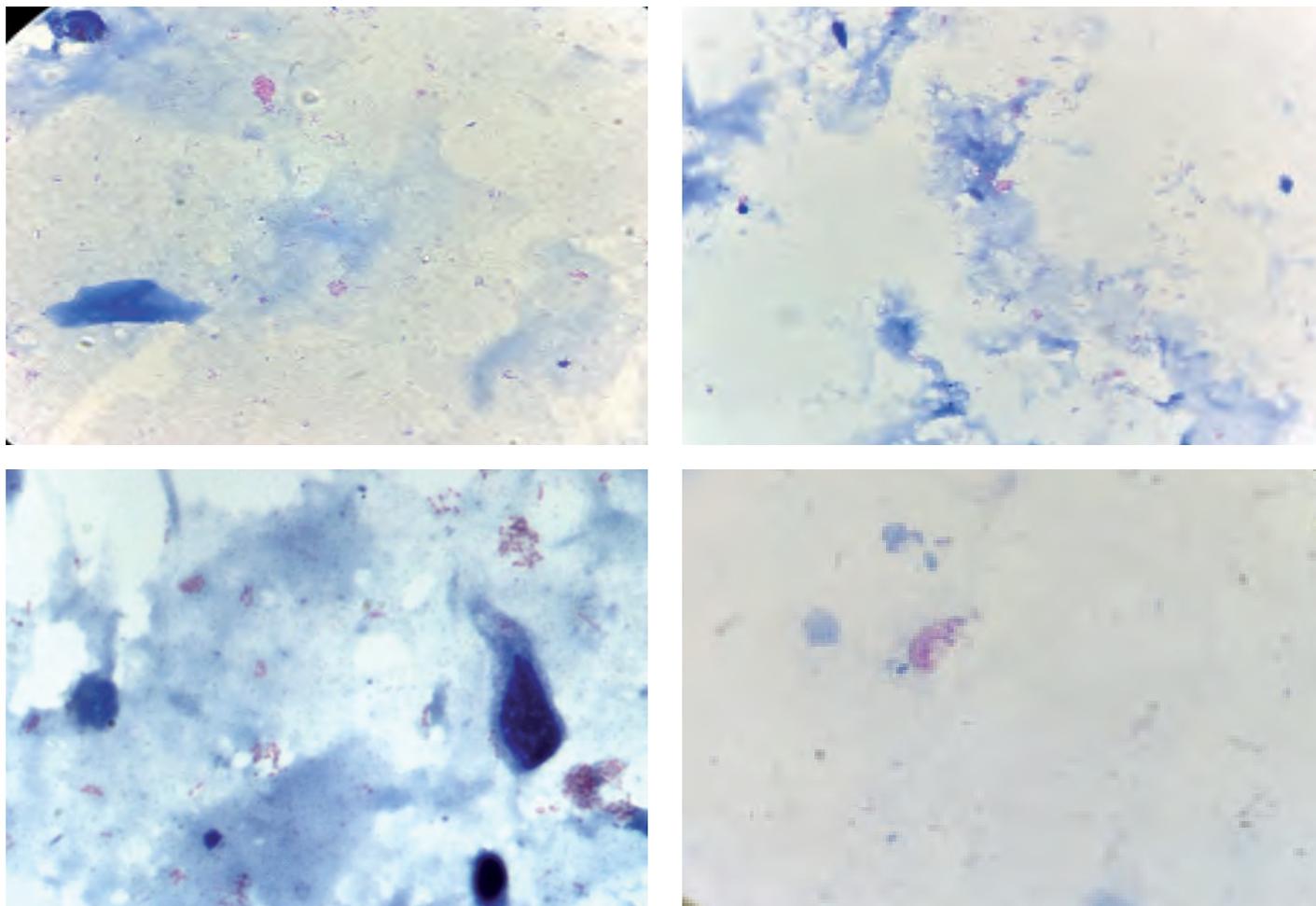


Рис. 6. Единичные полиморфные и множественные скопления (глобулы) фуксинофильных микобактерий.  
Fig. 6. Single polymorphic and multiple clusters (globules) of fuchsinophilic mycobacteria.

ными титрами антител на ФГЛ-1-антиген [16, 17]. При туберкулоидной форме лепры тесты на определение гуморального иммунитета малоэффективны (30–40%) в связи с особенностями иммунопатогенеза данной формы заболевания, вследствие чего ее диагностика вызывает значительные трудности. По данным некоторых авторов, передача микобактерий происходит уже на этапе субклинических форм лепры [10, 18]. Исследования некоторых ученых зафиксировали повышенные титры антител IgG против микобактерии лепры у лиц, не имеющих клинических признаков заболевания и проживающих на территории эндемичных по лепре областей, что, по их мнению, связано с латентной иммунизацией населения. По наблюдениям американских исследователей, повышение специфических антител IgM нередко бывает предвестником заболевания клинической лепрой [11, 15], что особенно важно для прогнозирования заболеваемости населения в целом и является причиной более тщательного наблюдения за такими пациентами.

### Заключение

Расширение торгово-экономических связей с дружественными странами, активные миграционные потоки, туризм, а также длительный инкубационный период, наследственная предрасположенность, сложный иммунопатогенез заболева-

ния, влияние социальных факторов, многообразные клинические проявления и тяжелые осложнения диктуют необходимость пристального внимания к диагностике лепры и обуславливают дальнейшее изучение и расширение возможностей ранней диагностики данного микобактериоза.

Проблема своевременной постановки диагноза по-прежнему остается актуальной, поскольку sporadическая заболеваемость, отсутствие готовности немедленного реагирования врачей с диагностической точки зрения, недостаточная информированность специалистов, нетипичные клинические проявления могут являться причиной длительного диагностического этапа и, соответственно, отсроченной специфической терапии, когда риск развития осложнений существенно возрастает [7, 9, 19].

Несмотря на sporadическую заболеваемость лепрой в России, выявленный клинический случай заболевания показывает необходимость бдительности врачей, пристального внимания и углубленного изучения анамнеза и грамотной диагностической дифференцировки клинически больных пациентов как в эндемичных, так и в неэндемичных регионах, поскольку своевременная диагностика данного микобактериоза способствует своевременному лечению и предотвращает развитие инвалидизирующих последствий [9].

Использованные нами иммунодиагностические тесты в качестве дополнительных диагностических инструментов в

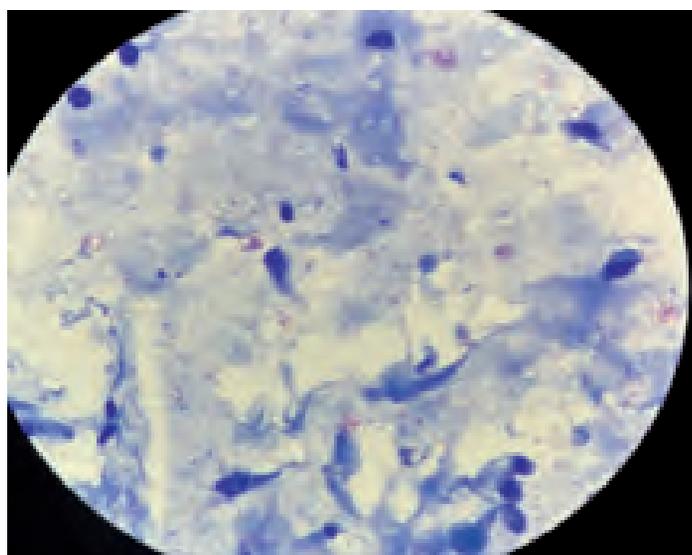
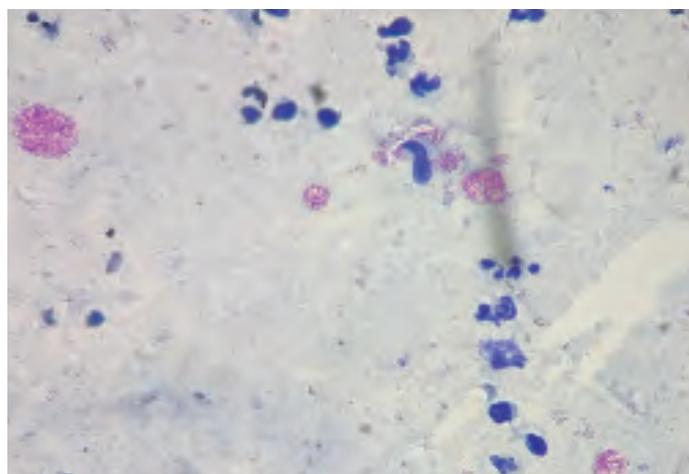
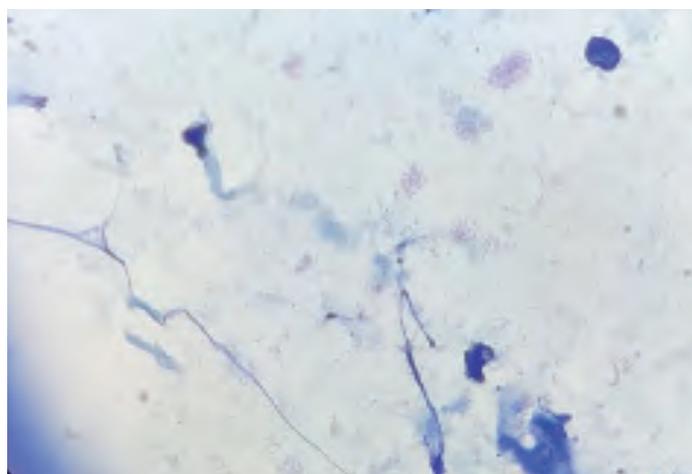
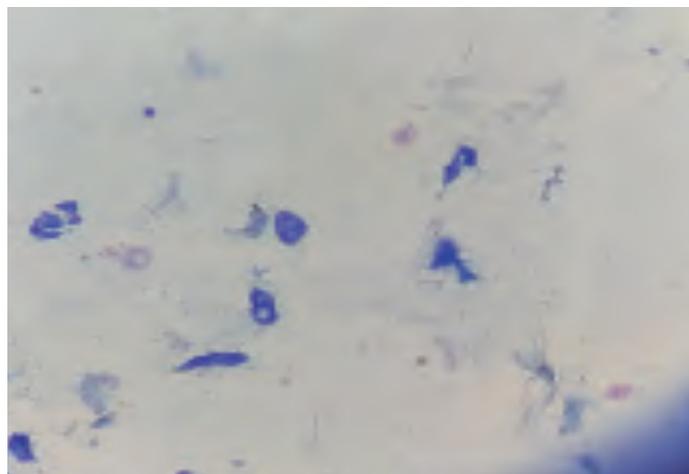
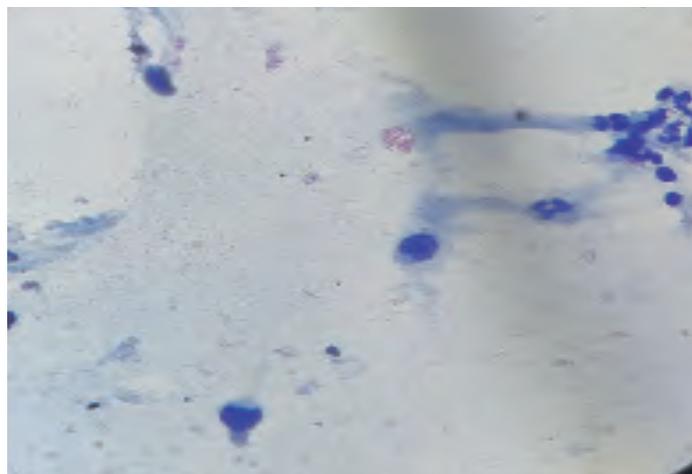


Рис. 7. Единичные полиморфные и множественные скопления (глобулы) фуксинофильных специфических микобактерий на фоне эпителиальных клеток и полиморфноядерных лейкоцитов, окрашенных в голубой цвет.

*Fig. 7. Single polymorphic and multiple clusters (globules) of fuchsinophilic specific mycobacteria against the background of epithelial cells and polymorphonuclear leukocytes stained blue.*

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

#### Литература

1. World Health Organization. Leprosy. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leprosy> (accessed 11 Jan 2022).
2. Белопасов ВВ. Типология и патогенез нейропатической боли при лепре. Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. 2018;2(9):41-45.
3. Кубанов АА, Абрамова ТВ, Мураховская ЕК, Ласачко ВА. Современный взгляд на лепру. Лечащий врач. 2018;5:48.
4. Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ. Mechanisms of nerve injury in leprosy. Clinics in dermatology. 2015;33(1):46-54. DOI: 10.1590/s0074-02762012000900014
5. Янчевская ЕЮ, Дуйко ВВ, Меснянкина ОА, Левичева ЮЮ. Случай лепроматозной лепры. Кубанский научный медицинский вестник. 2020;27(2):144-151. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-2-144-151
6. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 1966 Jul-Sep;34(3):255-73.

сочетании с микроскопией мазков подтверждают клинически установленный диагноз лепроматозной формы лепры и дают основание для рекомендаций врачам-инфекционистам по тщательному наблюдению за пациентами с выявленными повышенными титрами антител к *M. leprae*.

#### Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках НИОКР 1.1.17.

#### Financial support

The work was carried out within the framework of R&D 1.1.17.

7. Сароянц ЛВ, Арнаутова КШ, Абрамов ДД, Трофимов ДЮ. Разработка лабораторной диагностики лепры с помощью полимеразной цепной реакции. Клиническая лабораторная диагностика. 2018;63(1):55-59. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-1-55-59
8. Сароянц ЛВ, Болдырева МН, Гуськова ИА, Ющенко АА, Алексеев ЛП. Иммуногенетические маркеры предрасположенности к лепре у русских жителей Астраханского региона. Иммунология. 2005;26(5):263-267.
9. Hooij A, Geluk A. Immunodiagnosics for Leprosy. International Textbook of Leprosy. 2016. Open Access. DOI: 10.1489/itl
10. Kumar A, Parkash O, Girdhar BK. Analysis of antigens of *Mycobacterium leprae* by interaction to sera IgG, IgM, and IgA response to improve diagnosis of leprosy. Biomed Res Int. 2014;2014:283278. DOI: 10.1155/2014/283278
11. Spencer JS, Kim HJ, Wheat WH, Chatterjee D, Balagon MV, Cellona RV, et al.; IDEAL Consortium. Analysis of antibody responses to *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I, lipoarabinomannan, and recombinant proteins to define disease subtype-specific antigenic profiles in leprosy. Clin Vaccine Immunol. 2011 Feb;18(2):260-7. DOI: 10.1128/CVI.00472-10
12. Spencer JS, Duthie MS, Geluk A, Balagon MF, Kim HJ, Wheat WH, et al. Identification of serological biomarkers of infection, disease progression and treatment efficacy for leprosy. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012 Dec;107 Suppl 1:79-89. DOI: 10.1590/s0074-02762012000900014
13. Егоров АМ, Осипов АП, Дзантиев ББ, Гаврилова ЕМ. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991.
14. Кондаков НН, Мельникова ТМ, Чекрыжова ТВ, Мельникова МВ, Зинин АИ, Торгов ВИ, и др. Синтез дисахарида фенольного гликолипида (ФГЛ-1) из *Mycobacteria leprae* и его конъюгатов с бычьим сывороточным альбумином. Известия Академии наук. Серия химическая. 2015;5:1142-1148. DOI: 10.1007/s11172-015-0991-6
15. Geluk A. Challenges in immunodiagnostic tests for leprosy. Expert Opin Med Diagn. 2013 May;7(3):265-74. DOI: 10.1517/17530059.2013.786039
16. Дегтярев ОВ, Ротанов СВ, Ибадулаев ЗЯ. Антитела класса М к полусинтетическому антигену *Mycobacteria leprae* – Dis-BSA у жителей эндемичного и неэндемичного регионов России. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2015;18(5):56-59.
17. Espinosa OA, Benevides Ferreira SM, Longhi Palacio FG, Cortela DDCB, Ignotti E. Accuracy of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) in Detecting Antibodies against *Mycobacterium leprae* in Leprosy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2018 Nov 25;2018:9828023. DOI: 10.1155/2018/9828023
18. Bazan-Furini R, Motta AC, Simão JC, Tarquinio DC, Marques W Jr, Barbosa MH, Foss NT. Early detection of leprosy by examination of household contacts, determination of serum anti-PGL-1 antibodies and consanguinity. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011 Aug;106(5):536-40. DOI: 10.1590/s0074-02762011000500003
19. Дегтярев ОВ, Дячина МН, Дуйко ВВ, Паршин МП. Прогностическое значение сероэпидемиологического обследования при лепре. Туберкулез и болезни легких. 1995;2:35-37.
5. Yanchevskaya EYu, Duiko VV, Mesnyankina OA, Levicheva YuYu. A case of lepromatous leprosy. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2020;27(2):144-151. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-2-144-151 (In Russian).
6. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. Int J Lepr Other Mycobact Dis. 1966 Jul-Sep;34(3):255-73.
7. Saroyants LV, Arnaudova KSh, Abramov DD, Trofimov DYu. The development of laboratory diagnostic of leprosy using polymerase chain reaction. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2018;63(1):55-59. (In Russian). DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-1-55-59
8. Saroyants LV, Boldyreva MN, Gus'kova IA, Yuschenko AA, Alexeev LP. Immunogenetic markers of predisposition to leprosy among russian citizens in Astrakhan region. Immunologiya. 2005;26(5):263-267. (In Russian).
9. Hooij A, Geluk A. Immunodiagnosics for Leprosy. International Textbook of Leprosy. 2016. Open Access. DOI: 10.1489/itl
10. Kumar A, Parkash O, Girdhar BK. Analysis of antigens of *Mycobacterium leprae* by interaction to sera IgG, IgM, and IgA response to improve diagnosis of leprosy. Biomed Res Int. 2014;2014:283278. DOI: 10.1155/2014/283278
11. Spencer JS, Kim HJ, Wheat WH, Chatterjee D, Balagon MV, Cellona RV, et al.; IDEAL Consortium. Analysis of antibody responses to *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid I, lipoarabinomannan, and recombinant proteins to define disease subtype-specific antigenic profiles in leprosy. Clin Vaccine Immunol. 2011 Feb;18(2):260-7. DOI: 10.1128/CVI.00472-10
12. Spencer JS, Duthie MS, Geluk A, Balagon MF, Kim HJ, Wheat WH, et al. Identification of serological biomarkers of infection, disease progression and treatment efficacy for leprosy. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012 Dec;107 Suppl 1:79-89. DOI: 10.1590/s0074-02762012000900014
13. Егоров АМ, Осипов АП, Дзантиев ББ, Гаврилова ЕМ. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991. (In Russian).
14. Kondakov NN, Melnikova TM, Chekryzhova TV, Melnikova MV, Zinin AI, Torgov VI, et al. Synthesis of a disaccharide of phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* (PGL-I) and its conjugates with bovine serum albumin. Russ Chem Bull. 2015;5:1142-1148. DOI: 10.1007/s11172-015-0991-6 (In Russian).
15. Geluk A. Challenges in immunodiagnostic tests for leprosy. Expert Opin Med Diagn. 2013 May;7(3):265-74. DOI: 10.1517/17530059.2013.786039
16. Degtyarev OV, Rotanov SV, Ibadulaev ZYa. IgM antibodies to *Mycobacterium leprae* Dis-BSA semisynthetic antigen in residents of an endemic and nonendemic regions of Russia. Russian Journal of Skin and Venereal Diseases. 2015;18(5):56-59. (In Russian).
17. Espinosa OA, Benevides Ferreira SM, Longhi Palacio FG, Cortela DDCB, Ignotti E. Accuracy of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) in Detecting Antibodies against *Mycobacterium leprae* in Leprosy Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2018 Nov 25;2018:9828023. DOI: 10.1155/2018/9828023
18. Bazan-Furini R, Motta AC, Simão JC, Tarquinio DC, Marques W Jr, Barbosa MH, Foss NT. Early detection of leprosy by examination of household contacts, determination of serum anti-PGL-1 antibodies and consanguinity. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2011 Aug;106(5):536-40. DOI: 10.1590/s0074-02762011000500003
19. Degtyarev OV, Dyachina MN, Duiko VV, Parshin MP. Prognosticheskoe znachenie seroepidemiologicheskogo obsledovaniya pri lepre. Tuberculosis and Lung Diseases. 1995;2:35-37. (In Russian).

## References

1. World Health Organization. Leprosy. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leprosy> (accessed 11 Jan 2022).
2. Belopasov VV. Tipologiya i patogenez neiropaticheskoi boli pri lepre. Russkii meditsinskii zhurnal. Meditsinskoe obozrenie. 2018;2(9):41-45. (In Russian).
3. Kubanov AA, Abramova TV, Murakhovskaya EK, Lasachko VA. Sovremennyy vzglyad na lepru. The Lechaschi vrach Journal. 2018;5:48. (In Russian).
4. Scollard DM, Truman RW, Ebenezer GJ. Mechanisms of nerve injury in leprosy. Clinics in dermatology. 2015;33(1):46-54. DOI: 10.1590/s0074-02762012000900014

## Информация о соавторах:

Баранова Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Ганина Елена Анатольевна, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Шевяков Антон Георгиевич, научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Храмов Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, заместитель директора по качеству и развитию ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат медицинских наук, главный научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дятлов Иван Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

**Information about co-authors:**

Evgenia V. Baranova, PhD, MD, Leading Researcher of the Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Elena A. Ganina, Researcher of the Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Anton G. Shevyakov, Researcher of the department of immunobiochemistry of pathogenic microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Michail V. Khramov, PhD, MD, Deputy Director for Quality and Development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Sergey F. Biketov, PhD, MD, Chief Researcher of the immunobiochemistry of pathogens microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Ivan A. Dyatlov, MD, PhD, DSc, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

**НОВОСТИ НАУКИ**

## Генетика холеры – ключ к ее профилактике

Эксперты использовали передовой компьютерный подход для обнаружения генетических факторов, которые делают бактерии, вызывающие холеру, такими опасными, что может стать ключом к предотвращению этой смертельной болезни.

Инновационное исследование объединяет машинное обучение, геномику, метаболическое моделирование на уровне генома (GSMM) и 3D-структурный анализ, чтобы раскрыть генетические секреты *Vibrio cholerae* – бактерии, вызывающей холеру.

Холера – смертельное диарейное заболевание, которое продолжает угрожать миллионам людей по всему миру: ежегодно регистрируется до 4 миллионов случаев заболевания и до 143 000 смертей. Только в Бангладеш, где холера является постоянной опасностью, риску подвержены 66 миллионов человек, ежегодно регистрируется более 100 000 случаев заболевания и 4500 смертей.

*Vibrio cholerae* эволюционирует таким образом, что делает болезнь более серьезной и труднее поддающейся контролю, но до сих пор ученые не могли точно определить генетические факторы, обуславливающие эти изменения.

Еще меньше знаний о геномных признаках, ответственных за тяжесть холеры, возникающих в результате этих линий. Примерно у 1 из 5 человек, больных холерой, будет тяжелое состояние из-за сочетания симптомов (в первую очередь диарея, рвота и обезвоживание).

Британско-бангладешская исследовательская группа проанализировала бактериальные образцы от пациентов с холерой в шести регионах Бангладеш, собранные в период с 2015 по 2021 год. Они выявили набор уникальных генов и мутаций в самом последнем и доминирующем штамме *Vibrio cholerae*, ответственном за разрушительную вспышку 2022 года.

Определив ключевые генетические факторы, которые управляют как передачей, так и тяжестью холеры, был сделан значительный шаг к разработке более эффективных методов лечения и целевых вмешательств. Это может спасти тысячи жизней не только в Бангладеш, но и во всем мире.

Результаты исследования также показали, что некоторые из этих болезнетворных черт пересекаются с теми, которые помогают бактериям легче распространяться. Результаты показывают, как эти генетические факторы позволяют *Vibrio cholerae* выживать в кишечнике человека, делая его более устойчивым к стрессу окружающей среды и более эффективным в вызывании заболеваний. Это исследование подчеркивает сложные взаимодействия между генетическим составом бактерий и их способностью вызывать тяжелые заболевания.

*Maciel-Guerra A, Babaarslan K, Baker M, Rahman A, Hossain M, Sadique A, et al. Core and accessory genomic traits of Vibrio cholerae O1 drive lineage transmission and disease severity. Nat Commun. 2024 Sep 23;15(1):8231. DOI: 10.1038/s41467-024-52238-0*