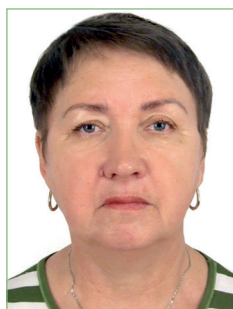


DOI: 10.31082/1728-452X-2019-203-5-22-25

УДК 616.9; 616-07:061.62

МАЛОИЗВЕСТНЫЙ МЕЛИОИДОЗ: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Т.В. МЕКА-МЕЧЕНКО, <https://orcid.org/0000-0002-6322-0065>,З.Ж. АБДЕЛ, <https://orcid.org/0000-0002-2738-6818>,Д.А. ТУРЕГЕЛДИЕВА, <https://orcid.org/0000-0002-4366-6748>,А.К. КАСЕНОВА, <https://orcid.org/0000-0002-5557-2909>,А.К. РЫСБЕКОВА, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>,А.А. АБДИРАСИЛОВА, <https://orcid.org/0000-0001-7308-2113>Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масғұта Айқымбаева МЗ РК,
г. Алматы, Республика Казахстан

Мека-Меченко Т.В.

В настоящее время борьба с инфекциями во всем мире приобретает особый характер, так как расширение международных контактов создает большие возможности для распространения из эндемичных природных очагов даже редко обнаруживаемых патогенных видов микроорганизмов, в том числе возбудителя мелиоидоза, относящегося к роду *Burkholderia*.

Цель исследования. Привлечение внимания специалистов к мелиоидозу путем обзора сведений об этом заболевании и на примере лабораторного исследования случая этого малоизвестного бактериального заболевания.

Материал и методы. Анализ данных по современному распространению мелиоидоза; сведения по исследованию материала от больного на наличие возбудителя мелиоидоза. Применялись методы: бактериологический, биологический, полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Результаты и обсуждение. В связи с регистрацией заболеваний мелиоидозом среди лиц, побывавших в качестве туристов или специалистов в эндемичных по этому заболеванию странах, не исключена возможность завоза этой инфекции в Республику Казахстан. Такой вероятный случай произошел и в г. Алматы. Исследование материала от пациента, побывавшего в Таиланде, нами проводилось в октябре 2018 г. с отрицательным результатом.

Выводы. Существует риск завоза опасной инфекции мелиоидоз в Казахстан из эндемичных стран. Лаборатории, имеющие разрешения на работу с микроорганизмами II группы патогенности, должны быть готовы к исследованию материала на мелиоидоз.

Ключевые слова: мелиоидоз, *Burkholderia pseudomallei*, лабораторная диагностика.

Для цитирования: Мека-Меченко Т.В., Абдел З.Ж., Турегелдиева Д.А., Касенова А.К., Рысбекова А.К., Абдирасилова А.А. Малоизвестный мелиоидоз: лабораторная диагностика // Медицина (Алматы). – 2019. – №5 (203). – С. 22-25

ТҰЖЫРЫМ

ТАНЫМАЛДЫҒЫ ТӨМЕН МЕЛИОИДОЗ: ЛАБОРАТОРИЯЛЫҚ ДИАГНОСТИКА

Т.В. МЕКА-МЕЧЕНКО, <https://orcid.org/0000-0002-6322-0065>,З.Ж. АБДЕЛ, <https://orcid.org/0000-0002-2738-6818>,Д.А. ТӨРЕГЕЛДИЕВА, <https://orcid.org/0000-0002-4366-6748>,А.К. ҚАСЕНОВА, <https://orcid.org/0000-0002-5557-2909>,А.К. РЫСБЕКОВА, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>,А.А. АБДІРӘСІЛОВА, <https://orcid.org/0000-0001-7308-2113>Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің «Масғұт Айқымбаев атындағы
Қазақ карантиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығы»,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы

Контакты: Мека-Меченко
Татьяна Владимировна, д-р мед.
наук, главный научный сотрудник
Казахского научного центра
карантинных и зоонозных
инфекций им. М. Айқымбаева,
г. Алматы, индекс 050054, e-mail:
tmeka-mechenko@kscqzd.kz

Contacts: Tatyana V Meka-
Mechenko, MD, Chief Researcher
at the M. Aikimbayev's Kazakh
Scientific Center for Quarantine and
Zoonotic Diseases, Almaty c.,
index 050054, e-mail: tmeka-
mechenko@kscqzd.kz

Поступила 03.04.2019

Қазіргі таңда бүкіл әлемде инфекциялармен күрес ерекше сипатқа ие болып отыр, себебі, халықаралық байланыстарды кеңейту сирек анықталатын микроорганизмдердің патогенді түрлерінің де, соның ішінде *Burkholderia* тұқымына жататын мелиоидоз қоздырғышының эндемикалық табиғи ошақтардан таралуына үлкен мүмкіндіктер береді.

Зерттеу мақсаты. Мелиоидоз сырқаты туралы деректерге шолу жасау арқылы және бұл баршаға толық танымал емес бактериалдық сырқатты зертханалық зерттеу жағдайы үлгісінде оған мамандардың назарын аудару.

Материал және әдістері. Мелиоидоздың заманауи таралуы бойынша деректерді талдау. Мелиоидоз қоздырғышының болуына науқастан алынған материалды зерттеу бойынша деректер. Келесі әдістер қолданылды: бактериологиялық, биологиялық, полимеразалық тізбектік реакция (ПТР).

Нәтижелері және талқылауы. Мелиоидоз сырқатының осы сырқат бойынша эндемикалық мемлекеттерде турист немесе маман ретінде болған тұлғалар арасында тіркелуіне байланысты, бұл инфекцияны Қазақстан Республикасына әкелу мүмкіндігі жоққа шығарылмайды. Осы сияқты жағдай Алматы қ. орын алды. Таиландта болған науқастан алынған материалды зерттеу 2018 ж. қазанда жүзеге асырылды, зерттеу нәтижесі теріс.

Қорытынды. Қазақстанға эндемикалық мемлекеттерден қауіпті мелиоидоз инфекциясын әкелу қауіпі бар. Патогендіктің II тобы микроорганизмдерімен жұмыс істеуге рұқсаты бар зертханалар мелиоидозға алынған материалды зерттеуге дайын болуы тиіс.

Негізгі сөздер: мелиоидоз, *Burkholderia pseudomallei*, зертханалық диагностика.

SUMMARY

LITTLE-KNOWN MELIOIDOSIS: LABORATORY DIAGNOSTICS

TV MEKA-MECHENKO, <https://orcid.org/0000-0002-6322-0065>,

ZZh ABDEL, <https://orcid.org/0000-0002-2738-6818>,

DA TUREGELDIYEVA, <https://orcid.org/0000-0002-4366-6748>,

AK KASSENOVA, <https://orcid.org/0000-0002-5557-2909>,

AK RYSBEKOVA, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>,

AA ABDIRASSILOVA, <https://orcid.org/0000-0001-7308-2113>

M. Aikimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases the Ministry of Healthcare of the Republic of Kazakhstan, Almaty c.

At the present time, the fight against infections around the world is acquiring a special character, since the expansion of international contacts creates great opportunities for the spread of even rarely detectable pathogenic microorganisms from endemic natural foci, including the pathogen melioidosis belonging to the genus *Burkholderia*.

Purpose of researches. Attracting the attention of specialists to melioidosis by reviewing information about this disease and using the example of a laboratory study of a case of this little-known bacterial disease.

Material and methods. Analysis of data on the current spread of melioidosis. Data on the study of material from the patient for the presence of the pathogen melioidosis. The following methods were used: bacteriological, biological, polymerase chain reaction (PCR).

Results and discussion. In connection with the registration of diseases of melioidosis among persons who have been visiting as tourists or specialists in countries endemic for this disease, the possibility of importation of this infection in the Republic of Kazakhstan is not excluded. Such a likely event occurred in the city of Almaty. We studied the material from a patient who visited Thailand in October 2018 with a negative result.

Conclusions. There is a risk of importing a dangerous melioidosis infection to Kazakhstan from endemic countries. Laboratories with permission to work with microorganisms of the pathogenicity group II should be ready to study melioidosis material.

Keywords: melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, laboratory diagnostics.

For reference: Meka-Mechenko TV, Abdel ZZh, Turegeldiyeva DA, Kassenova AK, Rysbekova AK, Abdirassilova AA. Little-known melioidosis: laboratory diagnostics. *Meditsina (Almaty) = Medicine (Almaty)*. 2019;5(203):22-25 (In Russ.). DOI: 10.31082/1728-452X-2019-203-5-22-25

Этиологическим агентом мелиоидоза является *Burkholderia pseudomallei*, высокопатогенная бактерия (относится ко второй группе патогенности по классификации, принятой в Республике Казахстан и странах СНГ). *B. pseudomallei* - этиологический агент особо опасной инфекции животных и людей, отнесен к потенциальным агентам биотерроризма. Высокая вирулентность возбудителя, низкая инфицирующая доза, возможность доставки агента в форме аэрозоля определили включение *B. pseudomallei* в категорию «В» потенциальных средств биотерроризма [1].

Для Казахстана мелиоидоз - «неизвестная» инфекция, и настоящее сообщение посвящено данным о современном распространении этой инфекции в мире, особенно в лабораторной диагностике, с которыми столкнулись авторы.

Обычно данная бактерия обнаруживается в почве и воде в Южной, Юго-Восточной Азии и северной Австралии. Заболевание известно также под названиями болезнь Уитмора и ложный сепсис, и вызывается контактом с кожей, вдыханием или употреблением загрязненной воды, зараженной бактерией *B. pseudomallei*. Исследователи, занимающиеся проблемой мелиоидоза, отмечают вероятность

широкого распространения бактерии, по крайней мере, в 79 странах. Ученые из Оксфордского университета и университета Вашингтона опубликовали доклад, в котором отметили, что малоизвестная болезнь мелиоидоз тихо уносит десятки тысяч жизней по всему миру, и это ежегодно. По оценке специалистов, в 2015 году мелиоидозом заболели примерно 165 тысяч жителей планеты, 89 тысяч из них умерли. Для сравнения: столько же человек ежегодно умирает от кори. Нашумевшая лихорадка Денге унесла гораздо меньше жизней - 12 с половиной тысяч.

Ранее считалось, что возбудитель мелиоидоза (*B. pseudomallei*) - свободно живущий естественный почвенный обитатель влажных субтропиков стран Юго-Восточной Азии. Позже стали регистрировать единичные случаи заболевания мелиоидозом в Австралии, Южной Америке, Западной Африке. Эти случаи трактовались как последствия пребывания людей в эндемичных районах или завоза больных мелиоидозом животных [2, 3, 4]. Изменение точки зрения на эпидемиологию и географию мелиоидоза произошло в 70-е годы двадцатого века. Отмечены заболевания этой инфекцией животных и людей, а также выделение возбудителя из объектов внешней среды во Франции, Сальвадоре, Чили, Италии и других странах. В последние

годы во многих странах Западной Европы, в том числе и в Скандинавии, регистрируются заболевания людей, которые отдыхали или работали в эндемичных странах.

Болезнь не имеет четкой, характерной симптоматики и ее трудно диагностировать. Вакцины от мелиоидоза нет, лечение его сложное и дорогое, а возбудитель устойчив к некоторым антибиотикам. При несвоевременном лечении от септической и легочной форм мелиоидоза умирают 90% больных. Даже в условиях клинического лечения современными препаратами отмечена гибель 40% пациентов [5, 6, 7].

Мелиоидоз может быть завезен на территорию Казахстана из эндемичных стран в связи с ростом транспортных связей, расширением туристических поездок граждан в эндемичные регионы. Также появление возбудителя может произойти за счёт ввоза в страну инфицированных животных.

Эпидемиологические особенности мелиоидоза определяются его выраженной вирулентностью, устойчивостью во внешней среде, широким спектром источников инфекции. В эндемичных по мелиоидозу районах основные природные резервуары – вода и почва, загрязненные выделениями больных животных. Животные поддерживают циркуляцию возбудителя в природе, выделяя его во внешнюю среду. Список животных, зараженных возбудителем мелиоидоза в естественных условиях, постоянно пополняется, чему способствует длительное бессимптомное сохранение возбудителя в организме животных-носителей [4].

Ранее мелиоидоз считался экзотической инфекцией, сейчас же – это мировая проблема. Происходит формирование новых очагов на неэндемичных территориях в связи с глобальным потеплением и изменением климата.

Заболевание имеет полиморфную клинику; в инфекционный процесс при мелиоидозе вовлечены лимфатические узлы, печень, селезенка, легкие; болезнь может протекать в форме сепсиса с образованием множественных абсцессов в различных органах [8].

Лабораторная диагностика инфекционного заболевания, тем более такого опасного, должна быть осуществлена в кратчайшие сроки.

Лабораторная диагностика мелиоидоза – трудоемкая задача. Стандартная бактериологическая диагностика, целью которой является выделение чистой культуры буркхольдерий и идентификация, – длительный процесс (36-48 часов).

Серологические методы относятся к экспресс- и ускоренной диагностике; но их чувствительность невысока; кроме того, возможны и неспецифические результаты. На ранних стадиях процесса эти методы имеют ограничения. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) – чувствительный и применимый в лабораторной диагностике мелиоидоза, даже на фоне антибиотикотерапии. ПЦР с праймерами на основе генов 23S рРНК при исследовании проб крови или мокроты больных людей и животных позволяет обнаружить гены возбудителя мелиоидоза даже в низкой концентрации [9-12].

Цель исследования - привлечение внимания специалистов к мелиоидозу путем обзора сведений об этом заболевании и на примере лабораторного исследования случая этого малоизвестного бактериального заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовался материал от пациента З., находившегося

на лечении в Национальном научном центре фтизиопульмонологии. Материал был направлен в КНЦКЗИ для исключения диагноза мелиоидоз, так как пациент побывал в Таиланде. Материал для исследования: кровь, серозная жидкость, моча.

Методы исследования: бактериологический, биологический, ПЦР.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Работа с исследуемым материалом, подозрительным на зараженность возбудителем мелиоидоза, проводилась в соответствии с требованиями по биологической безопасности работы с микроорганизмами II группы патогенности.

Материал был посеян в бульон и на агар Хоттингера с добавлением 4% глицерина, через 48 часов инкубации при 37°C на агаре колоний, характерных для возбудителя мелиоидоза, не обнаружено. Из бульона также был сделан высев на агаровые пластинки, на них тоже не было обнаружено характерного для возбудителя мелиоидоза роста.

Материал исследовался также биологическим методом. В качестве биопробных животных использовали белых мышей, которых заражали подкожно введением материала в объеме 0,5 мл. Наблюдали за экспериментальными животными в течение 10 дней. Падежа животных не было. Выживших животных умерщвляли, проводили вскрытие и посев паренхиматозных органов и крови на агар Хоттингера. Характерного для буркхольдерий роста не было обнаружено.

Пробы материала от больного были взяты и доставлены на фоне антибиотикотерапии.

Материал подготовлен к исследованию методом ПЦР в соответствии с инструкцией по применению «Набора реагентов для выявления и идентификации ДНК возбудителей бруцеллеза, сапа и мелиоидоза методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» (ОМ-Скрин-Бру/Сап/Мелиоидоз-РВ (с. 250918, годен до 09.2019 г.), производитель ООО «Синтол» (Россия). Материал обеззаражен мертиолятом натрия до конечной концентрации 1:10 000 (0,01%) с прогреванием в условиях водяной бани при температуре 56°C в течение 30 мин с последующим добавлением лизирующего буфера на основе 6М гуанидини-зотиоцианата.

Для выделения ДНК из образцов использован набор «ДНК-сорб-В» (с. 130618, годен до 13.06.2019 г.), производитель «АмплиСенс», Россия). Результаты исследований отрицательные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существует риск завоза опасной инфекции мелиоидоз в Казахстан из эндемичных стран. Лабораторное исследование по обнаружению патогенных буркхольдерий должны быть комплексными и сочетать экспресс-диагностические методы с традиционными.

ВЫВОДЫ

Наличие эндемичных очагов мелиоидоза в странах, с которыми Казахстан имеет обширные экономические и культурные контакты, диктуют необходимость готовности медицинских и ветеринарных служб нашей страны к возможным случаям появления этого заболевания и проведению необходимых лабораторных исследований. Лаборато-

рии, имеющие разрешения на работу с микроорганизмами II группы патогенности, должны быть готовы к исследованию материала на мелиоидоз.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В. Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2018. – №6. – С. 103-109
- 2 Илюхин В.И., Сенина Т.В. Мелиоидоз: итоги столетнего изучения, современные проблемы и зримые перспективы // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – №5. – С. 41-46
- 3 Cheng A.C., Currie B.J. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management // Clin. Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 18, No. 2. – P. 383–416
- 4 Inglis T.J.J., Sagripanti J.L. Environmental factors that affect the survival and persistence of *Burkholderia pseudomallei* // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – Vol. 72. – P. 6865–6875
- 5 Хабарова И.А., Жукова С.И., Ротов И.А., Снатенков Е.А., Топорков А.В., Викторов Д.В. Экстренная профилактика экспериментального мелиоидоза с использованием синтетических иммуномодуляторов и гетерологичных вакцин // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2018. – Т. 22, №3. – С. 340-350
- 6 Currue B.J., Ward L., Cheng A.C. The epidemiology and clinical spectrum of melioidosis: 540 cases from the 20 year Darwin prospective study // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2010. – Vol. 4. – P. 900
- 7 Estes D.M., Dow S.W., Schweizer H.P. et al. Present and future therapeutic strategies for melioidosis and glanders // Expert. Rev. Anti-Infect. Ther. – 2010. – Vol. 8. – P. 325–338
- 8 Илюхин В.И., Алексеев В.В., Королев Ю.С. Буркхольдерии - возбудители сапа и мелиоидоза Руководство по мед. микробиологии. – М., 2010. – Кн. 2. – С. 755–787
- 9 МУ 4.2.2787-10. «Лабораторная диагностика мелиоидоза».
- 10 Dance D.A. Melioidosis is an emerging global problem // Acta Trop. – 2000. – Vol. 74 (2–3). – P. 115-119
- 11 Антонов В.А., Илюхин В.И. Молекулярно-биологические подходы к диагностике и внутривидовому типированию возбудителей сапа и мелиоидоза // Молекул. генетика. – 2005. – № 2. – С. 3–9
- 12 Прохвятилова Е.В., Антонов В.А., Викторов Д.В., Храпова Н.П., Ткаченко Г.А., Илюхин В.И., Захарова И.Б., Гришина М.А., Плеханова Н.Г., Новицкая И.В., Кулаков М.Я., Булатова Т.В., Корсакова И.И., Савченко С.С., Бондарева О.С., Тетерятникова Н.Н., Сенина Т.В., Лопастейская Я.А., Батурин А.А., Куликова А.С. Сравнительная оценка информативности иммунологических и молекулярно-генетических методов и средств на этапах специфической индикации возбудителя мелиоидоза // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 12. – С. 55-59

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

- 1 Zakharova IB, Toporkov AV, Viktorov DV. Melioidosis and glanders: current state of the problem and topical issues of epidemiological surveillance. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;6:103-9 (In Russ.)
- 2 Ilyukhin VI, Senina TV. Melioidosis: the results of a century of study, current problems and visible prospects. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* = *Epidemiology and infectious diseases*. 2012;5:41-6 (In Russ.)
- 3 Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management *Clin. Microbiol. Rev.* 2005;18(2):383–416
- 4 Inglis TJJ, Sagripanti JL. Environmental factors that affect the survival and persistence of *Burkholderia pseudomallei*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72:6865-875
- 5 Khabarova IA, Zhukova SI, Rotov IA, Snatenkov YeA, Toporkov AV, Viktorov DV. Emergency prophylaxis of experimental melioidosis using synthetic immunomodulators and heterologous vaccines. *Vestnik RUDN. Seriya: Meditsina* = *Vestnik PFUR. Series: Medicine*. 2018;22(3):340-50 (In Russ.)
- 6 Currue BJ, Ward L, Cheng AC. The epidemiology and clinical spectrum of melioidosis: 540 cases from the 20 year Darwin prospective study. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010;4:900
- 7 Estes DM, Dow SW, Schweizer HP, et al. Present and future therapeutic strategies for melioidosis and glanders. *Expert. Rev. Anti-Infect. Ther.* 2010;8:325–38
- 8 Vilyukhin VI, Alekseev VV, Korolev YuS. *Burkhol'derii - vobzuditeli sapa i melioidoza Rukovodstvo po med. Mikrobiologii* [Burkholderia - causative agents of glanders and melioidosis. Microbiology]. Moscow; 2010;2:755–87 (In Russ.)
- 9 Methodical instructions Y 4.2.2787-10. "Laboratory diagnosis of melioidosis." (In Russ.)
- 10 Dance DA. Melioidosis is an emerging global problem. *Acta Trop.* 2000;74(2–3):115–9
- 11 Antonov VA, Ilyukhin VI. Molecular biological approaches to the diagnosis and intraspecific typing of causative agents of glanders and melioidosis. *Molekul. Genetika* = *Molecules. genetics*. 2005;2:3–9 (In Russ.)
- 12 Prokhvatilova EV, Antonov VA, Viktorov DV, Khrapova NP, Tkachenko GA, Ilyukhin VI, Zakharova IB, Grishina MA, Plekhanova NG, Novitskaya IV, Kulakov MYA, Bulatova TV, Korsakova II, Savchenko SS, Bondareva OS, Tetryatnikova NN, Senina TV, Lopasteyskaya YA, Baturin AA, Kulikova AS. Comparative evaluation of the informativeness of immunological and molecular genetic methods and means for the stage ah of specific indication of the pathogen melioidosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* = *Clinical laboratory diagnostics*. 2014;2:55-9 (In Russ.)