

До 10-річчя
АМЖ України

СМАЖИ ІНФЕКЦІЇ

2
2003

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ МАЛЯРИИ

Э. ГУСЕЙНОВ, Н. Ч. КОРЧИНСКИЙ

Первая клиническая городская больница, г. Баку, Азербайджан

Национальный медицинский университет, г. Киев, Украина,

кафедра инфекционных болезней,

зав. кафедрой академик АМН Украины, профессор Ж.И. Возианова

ключевые слова:

малярия, специфическая диагностика

Малярия — одно из заболеваний, которое непосредственно влияет на развитие цивилизации и тяжелым бременем ложится на здравоохранение многих стран мира. В последние годы в мире ежегодно только малярией *vivax* болеет около 70-80 млн. человек, из них только 10-20% регистрируется в субсахарной Африке, 10-15% — в Центральной и Южной Америке, остальные — в странах Среднего Востока, Азии, Океании [18, 32].

В 1992 году ВОЗ приняла Глобальную стратегию борьбы с малярией, однако она концентрирует свое внимание на странах с высокой эндемичностью — прежде всего Африке, Среднем Востоке и Юго-Восточной Азии [1, 8]. В дальнейшем на фоне эпидемических вспышек малярии *vivax* в новых регионах и роста летальности от тропической малярии была принята очередная программа по снижению заболеваемости и смертности от малярии [32], которая воспринимается многими исследователями достаточно скептически [2, 20].

Диагноз «малярия» базируется на эпидемиологическом анамнезе, клинических симптомах и обязательно подтверждается лабораторным паразитологическим исследованием крови, при этом основные клинические проявления могут быть малоспецифичны [2, 7]. Даже в экономически развитых странах, где имеются очаги малярии (преимущественно — *vivax*), диагноз устанавливается не ранее 5 суток болезни [17]. Поэтому значительное внимание уделяется именно специфической диагностике малярии.

Паразитоскопия мазков крови и толстой капли по-прежнему является основным методом диагностики малярии, равно как и главным методом, подтверждающим диагноз (Доклад исследовательской группы ВОЗ по выполнению Глобального плана действий по борьбе с малярией на период 1993-2000 гг., 1995 г.), но, к сожалению, его эффективность не абсолютна. Она зависит от уровня паразитемии, квалификации микроскопистов, технологического оснащения, однако продолжает считаться многими исследователями «золотым стандартом» диагностики [29]. В эндемичных районах отмечается слабая корреляция между уровнем паразитемии и клиническим состоянием пациента, что значительно затрудняет диагностику малярии, широко распространено паразитоносительство [32].

Диагностика легких форм малярии путем исключения других заболеваний и наличия эффекта или его отсутствия от лечения делагилом и примахином сама по себе может быть причиной серьезных диагностических ошибок, что становится весьма актуальным в связи с увеличением числа сообщений об устойчивости возбудителя к делагилу и другим препаратам [28].

Считаем, что тактика врача во внеэндемичных по малярии районах, при наличии у больного низкой паразитемии, не позволяющей дифференцировать легкую

малярию и другие заболевания на фоне реконвалесцентного или межрецидивного паразитоносительства, должна быть несколько изменена. В первую очередь это касается больных с подозрением на малярию *vivax*, которая редко сопровождается тяжелым течением и, тем более, летальными исходами. Так, у наблюдавшихся во время эпидемической вспышки в Азербайджане 275 больных первичной малярией *vivax* (она протекает тяжелее рецидивов!) в 1995 — 2000 годах не было зарегистрировано ни одного летального случая, несмотря на ошибки в диагностике и позднее поступление больных. Не было летальных случаев (в отличие от больных с малярией *falciparum*) и среди десятков больных с малярией *vivax*, находившихся на лечении в клинике инфекционных болезней Национального медицинского университета. Возможно, поэтому таким больным не рационально назначать делагил и примахин сразу же после взятия крови на малярию, не дожидаясь результата паразитоскопического исследования. Более рациональным считаем повторные паразитоскопические исследования крови (что не допустимо при подозрении на малярию *falciparum*) при отсрочке этиотропной терапии до подтверждения или исключения диагноза малярии. В этих сложных диагностических случаях весьма необходимо и одновременное использование других специфических методов подтверждения малярии, особенно высокоспецифичных и высокочувствительных.

Делаются попытки усовершенствовать микроскопическую диагностику малярии. Предлагают метод быстрой диагностики — флюоресцентная микроскопия в светлом поле с применением интерференсного фильтра [15]. Однако специфичность метода не всегда достаточная. Поэтому в последние годы разработаны и внедрены другие методы диагностики малярии. Для диагностики тропической и малярии *vivax* применяется метод моноклональных антител, основанный на выявлении активности специфических паразитарных ферментов и веществ — лактат дегидрогеназы (LDH), гистидин-рич протеин 2 (HRP-2) и некоторых других, определение которых занимает 10 минут [21]. Широко распространяется иммунохроматография в диагностике как малярии *vivax*, так и малярии *falciparum* [4]. Согласно некоторым данным, чувствительность метода иммунохроматографии для обнаружения в крови *Plasmodium vivax* составляет всего 72%, а специфичность — 99% [27]. Однако по другим данным чувствительность этого метода значительно выше — 94,8%, а специфичность — 98,2%. Но он оказался все же слабочувствительным при низких уровнях паразитемии — всего 29% [29]. Да и высокий уровень ложноположительных реакций у лиц с аутоиммунными заболеваниями делает этот метод неконкурентноспособным с паразитоскопией мазков крови [12]. Оправдано одновременное использование иммунохроматографии и паразитоскопии для обнаружения в крови небольших количеств *Plasmodium vivax* [12, 27, 29].

Последние годы большое внимание уделяется внедрению различных вариантов ПЦР (полимеразная цепная реакция) для диагностики малярии — обычный, мультиплексный, неизотопический и некоторые другие [9, 10, 14, 25, 26]. Для преодоления недостатков ELISA создана его комбинация с ПЦР [16]. Однако чувствительность, специфичность различных модификаций ПЦР, их клиническая эффективность различна. Чувствительность и эффективность обычной, изотопической ПЦР зависит от варианта генотипа плазмодия. Так, в исследовании, проведенном в Китае, она составляла для различных генотипов 88,5% и 11,5% [13]. Значительно более эффективным оказался вариант неизотопической ПЦР — 100% чувствительность и 98% специфичность. При этом подчеркивается быстрота получения результата и возможность использовать этот метод в качестве предиктора эффективности лечения [14]. Перспективной является мультиплексная ПЦР, которая находится в стадии внедрения [26], высокоэффективной для диагностики трехдневной малярии в Корее был вариант PCR-MPH [9].

Именно ПЦР и аналогичные ей методы мы считаем наиболее перспективными для использования одновременно с паразитоскопией мазков крови в сомнительных, диагностических случаях, особенно при наличии низкой паразитемии. Весьма ценными могут быть количественные варианты этого метода, позволяющие точно контролировать уровни паразитемии и, соответственно, эффективность этиотропных препара-

тов [9, 14, 26]. Именно благодаря различным модификациям ПЦР в последние годы были получены новые интересные данные даже о таком, казалось всесторонне изученном возбудителе, как *Plasmodium vivax*. Так, благодаря ПЦР, в последние годы выделяют 2 типа *Plasmodium vivax* — 1-й и 2-й [22], а не так давно в Бразилии выделили еще один штамм возбудителя малярии людей, который микроскопически не отличается от *Plasmodium vivax*, но который имеет существенные отличия в генотипе и CS протеине [23]. Во Франции от больного *vivax* малярией (подтверждено ПЦР) выделен западноафриканский штамм, микроскопически схожий с *Plasmodium ovale* [11]. Не были выявлены генетические различия *Plasmodium vivax* при попытке объяснить ими безрецидивное и рецидивирующее течение заболевания [10].

Считается менее специфичными и менее чувствительными по сравнению с ПЦР целая группа относительно новых методов серологической диагностики малярии. Так, достаточный клинический опыт накоплен при использовании иммунофлюоресцентного метода [30], метода иммуноферментного анализа [6], тестов QBC (количественное поглощение красителя акридина оранжевого с последующей микроскопией на флюоресцентном микроскопе) и OptiMAL. Перечисленные методы считаются более чувствительными, чем обычная микроскопия и могут выгодно ее дополнять [5, 24, 30, 31]. Вместе с тем, у больных малярией, которые прибывают из эндемичных районов, часто отмечаются высокие титры антител против 2 - 3, а то и всех 4 видов малярии, что существенно затрудняет быстрое подтверждение диагноза [19].

Основанные на определении антител к тем или иным антигенам малярийных паразитов методы, в том числе и самые современные (иммуноферментный, иммунохроматографический), не годятся для ранней диагностики первичной малярии. Они могут использоваться лишь для ретроспективной верификации диагноза или для массовых эпидемиологических исследований, отбора донорской крови [3, 32].

Таким образом, лабораторная диагностика малярии, несмотря на наличие большого количества методов, имеет множество проблем, связанных с необходимостью массового применения: стоимостью и сложностью исполнения, необходимостью дорогостоящего оборудования или недостаточной чувствительностью и специфичностью. Обычная микроскопия окрашенных мазков, как и 100 лет назад, является основным лабораторным методом, подтверждающим диагноз малярии. Однако наличие достаточно большого числа больных с низкой паразитемией (менее 1 паразита на 10 полей зрения) и одновременно с неубедительной клиникой малярии (нетипичная лихорадка, отсутствие увеличения селезенки и т.д.) требует внедрения в клинику и других современных, высокоточных, а, главное, и высокоспецифичных методов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляев А.Е. Малярийная ситуация в регионе ВОЗ Восточного Средиземноморья // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2000. — №2. — С.12-15.
2. Возианова Ж.И., Шкурба А.В. Малярия возвращается в Украину // Международный медицинский журнал. — 2000. — Т.6. — №1. — С. 94-97.
3. Реализация Глобальной стратегии борьбы с малярией // Доклад исследовательской группы ВОЗ по выполнению Глобального плана действий по борьбе с малярией на период 1993-2000 г., Женева, 1995: Серия технических докладов ВОЗ. — 83 с.
4. Araz E., Tanyuksel M., Ardic N., Tabuk C. Performance of a commercial immunochromatographic test for the diagnosis of vivax malaria in Turkey. // *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000 Jan-Feb. — Vol. 94. — N1. — P. 55-56.
5. Aslan G, Ulukanligil M, Seyrek A, Erel O. Diagnostic performance characteristics of rapid dipstick test for *Plasmodium vivax* malaria // *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001 Jul;96(5):683-686.
6. Bruce-Chwatt L.J. From Laveran's discovery to DNA probes: new trends in diagnosis of malaria // *Lancet* 1987. — N 11. — P. 1509 — 1511.
7. Carsley J., MacLean J.D. Malaria in Canada // *CMAJ*, 1997. — Jan 1. — Vol. 156 (1). — P. 57-58.
8. Communicable diseases 2000 // Geneva. WHO, 2000. — 102 p.
9. Chai J.Y., Park Y.K., Guk S.M., Oh K.H., Oh M.D., Lee S.H., Kim H.S., Wataya Y. A trial for a DNA diagnosis of *Plasmodium vivax* malaria recently reemerging in the Republic of Korea using microliter plate hybridization assay // *Am J Trop Med Hyg* 2000, Jul-Aug. — N 63 (1-2). — P. 80-84.
10. Craig A.A., Kain K.C. Molecular analysis of strains of *Plasmodium vivax* from paired primary and relapse infections // *J Infect Dis*, 1996 Aug; Vol.174. — N2. — P. 373-379.

11. Gautret P., Legros F., Koullmann P., Rodier M.H., Jacquemin J.L. Imported Plasmodium vivax malaria in France: geographical origin and report of an atypical cases acquired in Central or Western Africa //Acta Tropical, 2001 Feb 23. — N 78 (2). — P.177-81.
12. Grobusch M.P., Alpermann U., Schwenke S., Jelinek T., Warhurst D.C. False-positive rapid tests for malaria in patients with rheumatoid factor //Lancet, 1999, Jan 23. — Vol. 353 (9149). — P. 297.
13. Han G.D., Zhang X.J., Zhang H.H., Chen X.X., Huang B.C. Use of PCR/DNA probes to identify circumsporozoite genotype of Plasmodium vivax in China // Southeast Asian J Trop Med Public Health, 1999. — Mar, 30(1). — P. 20 — 23.
14. Humar A., Harrington M.A., Kain K.C. Evaluation of a non-isotopic polymerase chain reaction-based assay to detect and predict treatment failure of Plasmodium vivax malaria in travellers // Trans R Soc Trop Med Hyg.— 1997 Jul-Aug; 91(4). — P. 406-409.
15. Kawamoto F. Rapid diagnosis of malaria by fluorescence microscopy with light microscope and interference filter //Lancet, 1991 Jan 26; Vol. 337 (8735). — P. 200-202.
16. Laoboonchai A, Kawamoto F, Thanosingha N, Kojima S, Scott Miller RR, Kain KC, Wongsrichanalai C. PCR-based ELISA technique for malaria diagnosis of specimens from Thailand // Trop Med Int Health 2001, Jun;6(6). — P. 458 — 462 .
17. Lee KJ, Kim CB, Choi BJ, Park KH, Park JK. Analysis of vivax malaria cases in Gangwon-do (province), Korea in the year 2000 // Korean J Parasitol 2001 Dec; 39(4). — P. 301-306.
18. Mendis K., Sina B.J., Marchesini P., Carter R. The neglected burden of Plasmodium vivax malaria //American J. Trop. Med. Hyg., 2001, Jan.-Feb; 64 (1-2 Suppl). — P. 97 — 106.
19. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1999 Apr 2; Vol. 48 (12).— P. 253 — 256.
20. Nabarro D.N., Tayler E.M. The «roll back malaria» campaign. //Science 1998; Vol. 282.— P. 1126 — 1132.
21. Palmer C.J., Lindo J.F., Klaskala W.I. et al, Evaluation of the OptiMal test for rapid diagnosis of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum malaria // J Clin Microbiol 1998. — N 36. — P. 203 — 206.
22. Qari S.H., Goldman I.F., Pova M.M. Oliveira S., Alpers M.P., Lal A.A. Wide distribution of the variant form of the human malaria parasite Plasmodium vivax // J.Biol Chem 1991.—Vol. 266 — P. 16297-16300.
23. Qari S.H., Goldman I.F., Udhayakumar V., Alpers M.P., Collins W.E., Lal A.A. Identification of Plasmodium vivax-like human malaria parasite //Lancet. — 1993.— Mar 27. — Vol. 341 (8848).— P. 780-783.
24. Rickman L.S., Long G.W., Oberst R., Davis E.R. Rapid diagnosis of malaria by acridine orange staining of centrifuged parasites //Lancet. — 1989. — N1. — P. 68 — 71.
25. Rubio J.M., Benito A., Roche J., Berzosa P.J., Garsia M.L., Mico M., Edu M., Alvar J. Semi-nested, multiplex polymerase chain reaction for detection of human malaria parasites and evidence of Plasmodium vivax infection in Equatorial Guinea // Am J Trop Med Hyg. — 1999. — Feb. N 60 (2). — P. 183 — 187.
26. Rubio JM, Post RJ, van Leeuwen WM, Henry MC, Lindergard G, Hommel M. Alternative polymerase chain reaction method to identify Plasmodium species in human blood samples: the semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR) // Trans R Soc Trop Med Hyg. — 2002, Apr. — N 96. — Suppl 1. — P. 199 — 204.
27. Singh N., Saxena A., Valecha N. Field evaluation of the ICT malaria P.f. /P.v. immunochromatographic test for detection pf Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax infection in forest villages of Chhndrava, central India // Trop Med Int Health. — 2000, Nov. — N 5 (11). — P. 765 -770.
28. Taylor W.R., Doan H.N., Nguyen D.T. et all Assessing drug sensivity of Plasmodium vivax to halofantrine or chloroquine in southern, central Vietnam using an extended 28-day in vivo test and polymerase chain reaction genotyping // Am J Trop Med Hyg. — 2000, Jun. — N 62 (6). — P. 653-657.
29. Tjitra E., Suprianto S., Dyer M., Currie B.J., Anstey N.M. Field evaluation of the ICT malaria P.f./P.v. immunochromatographic test for detection pf Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax in patients with a presumptive clinical diagnosis of malaria in eastern Indonesia // J Clin Micribiol. — 1999, Aug. — N 8. — P. 2412 — 2417.
30. Voller A., Draper C.C. Immunodiagnosis and seroepidemoilgy of malaria //Br Med Bull., 1982. — N 38. — P. 173 — 177.
31. Wang X., Zhu S., Liu Q., Hu A., Zan Z., Yu Q., Yin Q. Field evaluation of the QBC technique for rapid diagnosis of vivax malaria //Bull World Health Organ. — 1996. — N 74(6). — P. 599-603.
32. WHO Expert Commettee on malaria: twentieth report //Technical Report Series. — N.892. — Geneva, 2000.— 74 p.

УДК: 616.936- 036.1

UDC: 616.936- 036.1

E. Гусейнов, М.С. Корчинський

E. Huseinov, M.Ch. Korchinsky

Деякі проблеми сучасної специфічної діагностики малярії

Some problems of modern malaria specific diagnostics

Огляд літератури присвячений нагальним проблемам сучасної специфічної діагностики малярії. Обговорюються недоліки та переваги як класичного методу діагностики малярії, так і більш сучасних методів (імуноферментного, імунохроматографічного, різновидів полімеразної ланцюгової реакції).

The short reveiw of literature is dedicated to important problems of the modern specific diagnostics of malaria. The advantages and disadvantages of classical method of malaria diagnostics as will as more modern methods (immunenzimatik, immunechromotographical sorts of polimerasical chain reaction) are disscased.