

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.845.42+579.834.114

### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА СЕРЕБРЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ПОЗДНИХ КОЖНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПРИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗАХ У ЧЕЛОВЕКА

© Л. А. Григорьева, А. В. Бабкин

Боррелиозная этиология подтверждена в 60 % случаев очаговой склеродермии и 100 % случаев анетодермии и атрофодермии Пазини-Пьерини в непрямо́й реакции иммунофлуоресценции с Ir-21 (*B. afzelii*) и при серебрении по Левадити. Боррелии локализуются в периваскулярном пространстве среди мышечных и соединительнотканых волокон дермы и между клеток зернистого слоя эпидермиса.

Иксодовые клещевые боррелиозы (болезнь Лайма) — природно-очаговая трансмиссивная инфекция, вызываемая спирохетами группы *Borrelia burgdorferi* s. lato и передающаяся в России при укусах клещей *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus*. Заболевание широко распространено в лесах умеренного климатического пояса: оно выявлено на 41 крупной административной территории, так что ежегодно в России может быть до 10—12 тыс. свежих случаев заболевания (Коренберг, Крючечников, 1996).

Для болезни Лайма характерно относительно вялое и длительное развитие инфекционного процесса с возможными рецидивами, полисистемность патологии и высокий уровень заболеваемости (Коренберг, 1996). В течении выделяют ранний период, с локализацией и диссеминацией возбудителя, и поздний, характеризующийся персистенцией инфекции в каком-либо органе или ткани.

Ранние кожные проявления идентичны при всех нозологических формах, что связано с локализацией возбудителя в месте укуса клеща. Специфическим поздним кожным проявлением считается хронический атрофический акродерматит, регистрируемый у 10 % больных (Stanek e. a., 1988). Однако общее число нозологических форм болезни Лайма пополняется неспецифическими, такими как очаговая склеродермия, анетодермия и атрофодермия Пазини-Пьерини. За рубежом боррелиозная этиология подтверждена в 50 % случаев очаговой склеродермии (Scott e. a., 1990; Fujiwara e. a., 1997) и при всех исследованных случаях анетодермии и атрофодермии Пазини-Пьерини (Hoffman e. a., 1990; Abele e. a., 1990). В России часто регистрируют такие кожные поражения. По аналогии с западными работами (Capica e. a., 1993) в клинической практике их связывают с *B. afzelii*, однако лабораторного подтверждения этому пока не было.

На примере случаев с характерными кожными поражениями в виде очаговой склеродермии, атрофодермии Пазини-Пьерини и анетодермии мы попытались доказать их боррелиозную этиологию и определить локализацию возбудителя.

Биоптаты кожи от 15 больных с характерными для перечисленных выше патологий проявлениями исследовали при окраске по методу Левадити. Материал фиксировали в 10 %-ном формалине с последующим серебрением в 3 сменах 1.5 %-ного раствора азотнокислого серебра и восстанавливали в смеси пиригаллола с формалином, заливали через ксилол в парафин. Срезы в 5 мкм толщины заключали в

канадский бальзам. Следует отметить, что этот метод дает исключительно четкие результаты и позволяет успешно обнаруживать боррелий в тканях как членистоногих, так и млекопитающих, что было проверено нами ранее (Григорьева, 1996; Балашов и др., 1997). Не составляет труда идентифицировать единичных возбудителей характерной формы и черной окраски на серебрянных препаратах на фоне тканей эпидермиса и дермы, окрашивающихся в желто-бурый цвет.

Дополнительно сыворотка крови больных была исследована в непрямой реакции иммунофлуоресценции со стандартным антигеном, полученным на основе изолята Ir-21 — *B. afzelii* (НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН), отмечен положительный результат у 30 (60 %) больных с очаговой склеродермией, у 9 (100 %) больных с атрофодермией и у 10 (100 %) с анетодермией.

При гистологическом исследовании серебрянных кожных биоптатов были обнаружены единичные боррелии, которые выглядели как окрашенные в черный цвет, неравномерно извитые нити до 12—27.5 мкм длины и 0.2—0.3 мкм ширины. Их идентифицировали в эпидермисе и дерме. При очаговой склеродермии в периваскулярном пространстве, где отмечали боррелий, наблюдалась сильная лимфоцитарная и очаги продуктивной реакций (см. рисунок, 1; см. вкл.). Возбудители черного цвета хорошо различимы среди желто-бурых на препаратах волокон рыхлой соединительной ткани (2, 3) и групп мышечных волокон (3, 4), которые при наличии возбудителя теряют характерную поперечную исчерченность и подвергаются дистрофическим изменениям. При атрофодермии Пазини-Пьерини и анетодермии боррелий находили между клеток зернистого слоя эпидермиса (5, 6).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты: № 96-04-48 389 и 96-15-97 882.

#### Список литературы

- Балашов Ю. С., Григорьева Л. А., Оливер Дж. Х. Локализация боррелий в организме клеща *Ixodes persulcatus* на различных стадиях развития // *Паразитология*. 1997. Т. 31, вып. 2. С. 97—103.
- Григорьева Л. А. Землеройки как резервуар боррелий на северо-западе России // *Паразитология*. 1996. Т. 30, вып. 5. С. 470—472.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. И. Иксодовые клещевые боррелиозы — новая группа заболеваний человека // *Журн. микробиол.* 1996. № 4. С. 104—108.
- Коренберг Э. И. Таксономия, филогенетические связи и области формообразования спирохет рода *Borrelia*, передающихся иксодовыми клещами // *Усп. совр. биол.* 1996. Т. 116, вып. 4. С. 389—405.
- Abele D. C., Anders K. H. The many faces of borreliosis // *J. Am. Acad. Dermatol.* 1990. Vol. 3. P. 401—410.
- Canica M. M., Nato F., du Merle L., Mazie I. C., Baranton G., Postic D. Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestation of Lyme borreliosis // *Scand. J. Infect. Dis.* 1993. Vol. 25. P. 441—448.
- Fujiwara H., Fujiwara K., Hashimoto K. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA (*B. garinii* or *B. afzelii*) in morfea and lichen sclerosus et atrophicus tissues of German and Japanese but not of US patients // *Arch. Dermatol.* 1997. Vol. 113. P. 41—44.
- Hoffmann H., Martin C., Preac-Mursic V. Atrophoderma Pasini et Pierini-seronegative *Borrelia burgdorferi* infection // *Abstr. 4th Intern. Conf. on Lyme Borreliosis*. Stockholm, 1990. P. 89.
- Scott A. R., Sanchez J. L., Taboas J. O. Spirochetal forms in the dermal lesions of morphea and lichen sclerosus et atrophicans // *Am. J. Dermatopathol.* 1990. Vol. 12. P. 357—362.
- Stanek G., Pletschette M., Flamm H. European Lyme borreliosis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1988. Vol. 539. P. 472—481.

ЗИН РАН, Санкт-Петербург, 199034;  
ВМА, Санкт-Петербург

Поступила 12.06.1998

APPLICATION OF THE SILVER STAINING METHOD FOR THE DIAGNOSIS  
OF THE LATER CUTANEOUS LESIONS IN A HUMAN CAUSED  
BY THE TICK-BORNE BORRELIOSIS

L. A. Grigoryeva, A. V. Babkin

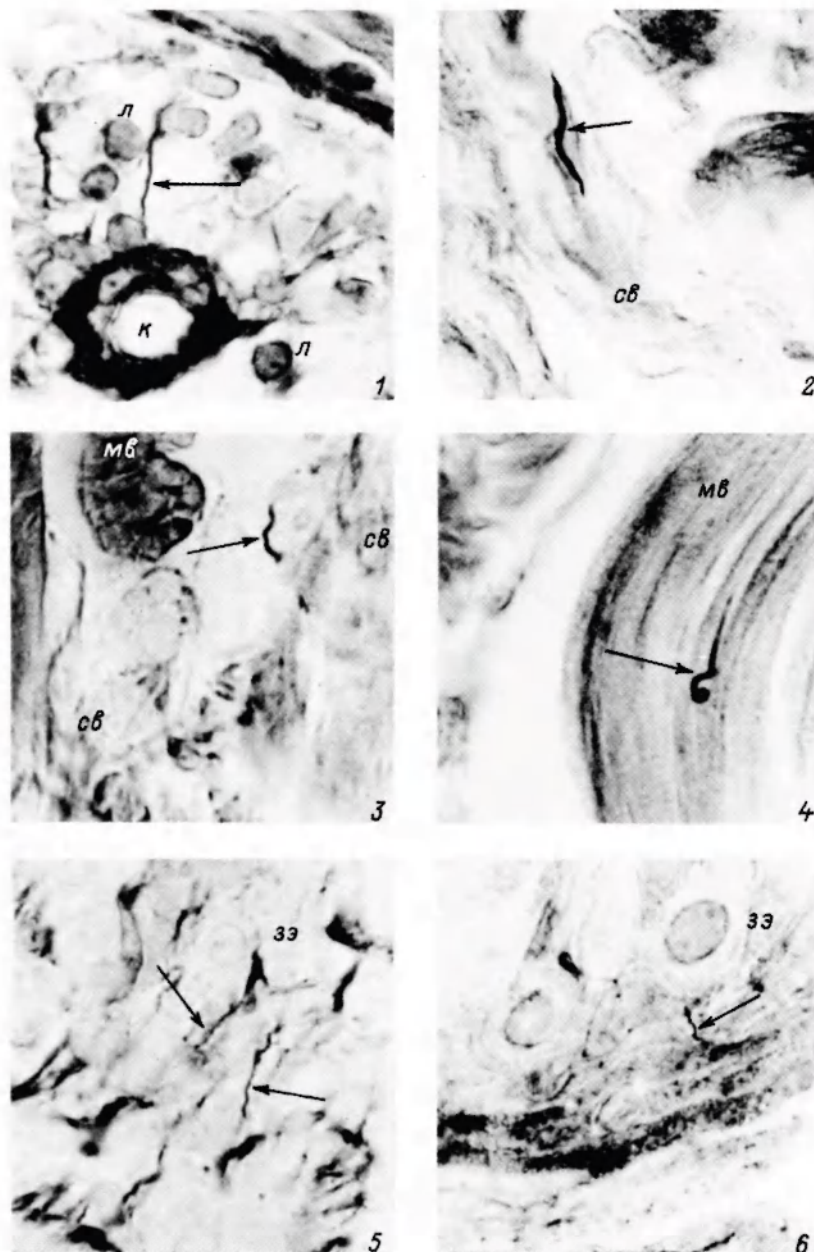
*Key words:* *Borrelia burgdorferi* s. lato, silver staining after Levadity, morphea, atrophoderma of Pasini-Pierini, anetoderma.

SUMMARY

The borreliosis etiology was verified in 60 % cases of the morphea, 100 % cases of the atrophoderma of Pasini-Pierini and 100 % cases of anetoderma by means of IFA with Ip-21 antigen (*B. afzelii*) and silver staining after Levadity. Borreliae were located near the capilars, muscular and areolar tissue fibers of the derm and near the granulated cells of epidermis.

---

Вклейка к ст. Л. А. Григорьевой и А. Б. Бабкиной



Боррелии в коже человека (× 1000, серебрение по Левадити).

В периваскулярном пространстве дермы (1), среди волокон рыхлой соединительной ткани (2, 3), в мышцах (4) при очаговой склеродермии. Между клетках зернистого и шиповатого слоев эпидермиса при атрофодермии Пазини-Пьерини (5) и анетодермии (6).

Боррелии указаны стрелками; зэ — клетки зернистого слоя эпидермиса; к — капилляр; л — лимфоциты; мв — мышечные волокна; св — соединительнотканьные волокна.

Borreliae in a human skin (× 1000, silvering after Levadity).