

УДК: 57.083.18:579.834.114Borrelia(571.620)
DOI: 10.62963/2073-2899-2025-48-24-28

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БОРРЕЛИЙ КОМПЛЕКСА *BORRELIABURGDORFERISENSULATO* В ПЕРЕНОСЧИКАХ НА ТЕРРИТОРИИ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ

Н.В. Белкина, А.Г. Драгомерецкая, О.Е. Троценко, Т.А. Аушева
ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
г. Хабаровск, Российская Федерация

Определение видов и генотипов возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), циркулирующих на территории региона, необходимо для своевременной диагностики заболевания и способствует своевременному назначению терапии пациентам с ИКБ.

В клещах, собранных с растительности на территории Хабаровского края в 2021-2023 гг., ДНК боррелий комплекса *B.burgdorferi* s.l. была выявлена в 38,0% случаев. При изучении видового разнообразия возбудителей ИКБ генетический материал *B.afzelii* и боррелий группы *B.garinii*sensulato был выявлен в 47,2% случаев для обоих возбудителей. Показатель инфицированности *B.afzelii* клещей *I.persulcatus* оказался статистически значимо выше такового для *B.garinii* s.s. и *B.bavariensis*. В результате исследования клещей, удалённых после присасывания к человеку в 2024 г., генетический материал боррелий *B.garinii sensu lato* (*B.garinii sensu stricto*+*B.bavariensis*) был выявлен в 53,63% случаев. ДНК *B.afzelii* содержали 27,65% проб.

Вышеизложенное обуславливает необходимость видовой идентификации возбудителей ИКБ в клиническом материале от заболевших и анализа клинических проявлений в зависимости от этиологии заболевания.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, *Ixodes persulcatus*, боррелии комплекса *Borrelia burgdorferisensulato*, боррелии группы *Borrelia garinii*sensulato, полимеразная цепная реакция, *B.afzelii*, *B.garinii*sensustricto, *B.bavariensis*.

IDENTIFICATION OF BORRELIA OF THE *BORRELIA BUGDORFERI SENSU LATO* COMPLEX SPECIES IN VECTORS IN THE Khabarovsk Region Territory

N.V. Belkina, A.G. Dragomeretskaya, O.E. Trotsenko, T.A. Ausheva

FBUN Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Khabarovsk, Russian Federation

Identification of species and genotypes of the ixodid tick-borne borreliosis (ITB) circulating in the territories of the region is required for timely diagnosis of the disease and facilitates timely prescription of the treatment to patients with ITB.

B.burgdorferi s.l. was isolated in 38.0% of the ticks collected from the vegetation of the Khabarovsk krai territory in 2021-2023. Evaluation of the genetic diversity of the ITB causative agents allowed to establish the presence of *B.afzelii* and *B.garinii sensu lato* genetic material in 47.2% of the samples for both pathogens. Genetic material of the *B.garinii sensu lato* (*B.garinii sensu stricto*+*B.bavariensis*) was detected in 56.63% of the ticks removed from human host in 2024. *B.afzelii* DNA was found in 27.65% of the specimens.

The foregoing discussion determines a necessity of ITB species identification in the clinical material collected from infected patients as well as performing analysis of clinical manifestations of the disease depending on its etiology.

Key words: ixodid tick-borne borreliosis, *Ixodes persulcatus*, borrelia of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, borrelia group *Borrelia garinii sensu lato*, polymerase chain reaction, *B.afzelii*, *B.garinii sensu stricto*, *B. bavariensis*.

Актуальность проблемы иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) на современном этапе обусловлена как ростом инфицированности клещей боррелиями, так и ростом заболеваемости населения. Несмотря на внедрение новых технологий лабораторной диагностики, верифицируется лишь часть инфекций, этиология ряда из них остается нерасшифрованной. Известно, что патогенез забо-

леваний, вызываемых различными видами боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi s.l.*), многообразен. [1, 14]. ИКБ отличаются многообразием клинических проявлений и склонностью к затяжному рецидивирующему течению [16].

В связи с этим определение видов и генотипов возбудителей, циркулирующих на территории региона, необходимо для своевременной диагностики заболевания и способствует своевременному назначению терапии пациентам с ИКБ.

Изучение молекулярно-генетическими методами изолятов возбудителей ИКБ, проведённое в разных регионах России и сопредельных странах, выявило виды *B. garinii* (подгруппы 20047 и NT29), *B. afzelii*, *B. lusitanae*, *B. valaisiana* и *B. burgdorferi sensu stricto* [4, 18]. Было показано, что повсеместное распространение и преимущественное эпидемиологическое значение в России имеют *B. garinii* и *B. afzelii*, для которых установлены основные переносчики и резервуарные хозяева [7].

Инфицированность клещей возбудителями ИКБ на территории Хабаровского края ежегодно достигает высоких значений и составляет в разные годы от 28,4% до 35,9% проб. В силу урбанизации и её социально-экономических последствий, таких как увеличение площади городов, присоединение к ним близлежащих населённых пунктов, а также роста численности городского населения, риску встречи с иксодовыми клещами всё чаще подвергаются и городские жители [3, 6].

Согласно данным государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Хабаровском крае в 2023 году», ИКБ занимает второе ранговое место по заболеваемости после клещевых риккетсиозов (25,08 на 100 тыс. населения). В Хабаровском крае показатели заболеваемости ИКБ в 2010-2023 гг. составляли от 2,62 до 4,21 на 100 тысяч населения.

По данным Н.М. Пуховской и соавт. (2019), в результате исследований иксодовых клещей, собранных в 1999-2014 гг. на территории Хабаровского края, было показано присутствие в регионе трёх возбудителей ИКБ [20]. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и межгенных спейсеров 5S-23S рРНК выявил наличие в исследованных клещах генетического материала *B. garinii* азиатского NT29 (*B. garinii s.s.*) и европейского 20047 (*B. bavarensis*) типов, *B. afzelii* с последовательностями, идентичными штамму VS461 у большинства изученных изолятов [20].

В связи с вышесказанным, целью работы стало определение видового разнообразия возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Хабаровского края.

Материалы и методы

Для видовой идентификации возбудителей ИКБ были исследованы 418 особей *I. persulcatus*, собранных с растительности на территории г. Хабаровска и Хабаровского района в 2021-2023 гг., а также 358 клещей рода *Ixodes*, удалённых после присасывания к человеку в 2024 году. Сбор иксодовых клещей проводили в бесснежный сезон 2021-2023 гг. в зелёных массивах г. Хабаровска, а также на территории Хабаровского района на флаг.

Выделение образцов суммарных нуклеиновых кислот из 100 мкл суспензии клещей проводили с использованием наборов серии «РеалБест» с последующей детекцией ДНК-маркера с использованием ПЦР-теста «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Видовую принадлежность клещей рода *Ixodes* определяли по морфологическим признакам и с помощью видоспецифичной ПЦР, где в качестве мишени был использован митохондриальный ген первой субъединицы цитохромс-оксидазы *cox1*. Амплификацию нуклеиновых кислот проводили на термоциклере с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «CFX 96» («Bio-Rad», США).

Дифференцировку видов боррелий в позитивных образцах осуществляли в два этапа в соответствии с методикой, описанной Т.А. Мухачевой (2015) и К. Ornstein (2006) [8,18]. В качестве мишени были использованы гены «домашнего хозяйства» *uvrA* и *infS*. Праймеры и зонды были синтезированы в ООО «НПФ Синтол» (г. Москва). Для приготовления реакционной смеси были использованы компоненты производства ЗАО «Евроген» (г. Москва).

Результаты и обсуждение

В результате видовой идентификации клещей рода *Ixodes*, собранных с растительности, по морфологическим признакам и при подтверждении молекулярно-генетическими методами, все 418 исследованных особей были отнесены к виду *Ixodes persulcatus*. В результате исследований ДНК боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.* была выявлена в 159 пробах или в 38,0% (95% ДИ: 33,38-42,69%) исследованных клещей.

ДНК *B. afzelii* содержали 47,2% (95% ДИ: 39,41-54,92%) из 159 проб. При этом микст-инфицирование *B. afzelii*+*B. garinii s.l.* было отмечено в 20,75% (95% ДИ: 14,45-27,05%) случаев. Стоит отметить, что в 42 из 159 (26,4%; 95% ДИ: 19,56-33,26%) клещей, содержащих ДНК боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.*, не была обнаружена ДНК ни *B. afzelii*, ни боррелий группы *B. garinii s.l.*, что не исключает возможность циркуляции на территории Хабаровского края других видов боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.*, зарегистрированных на территории Российской Федерации (табл. 1).

Генетический материал боррелий группы *B. garinii sensu lato* (*B. garinii sensu stricto*+*B. bavarensis*) был выявлен в 75 (47,2%; 95% ДИ: 39,41-54,92%) из 159 проб. ДНК *B. bavariensis* была выявлена в 14 (18,6%; 95% ДИ: 9,84-27,48%) из 75 проб. *B. garinii sensu stricto* были инфицирова-

ны 8% (95% ДИ: 1,86-14,10) клещей (6 из 75). При этом микст-инфицирование *B.garinii sensu stricto* и *B.bavariensis* наблюдалось в 53,3% (95% ДИ: 42,04-64,62%) случаев (в 40 из 75). В 15 (20,0%; 95% ДИ: 10,94-29,05%) из 75 проб боррелий группы *B.gariniis.l.* не удалось отнести ни к *B.garinii sensu stricto*, ни к *B.bavariensis* (табл. 1).

Таблица 1.
Инфицированность боррелиями комплекса *B.burgdorferisensulato* и клещей рода *Ixodes*, собранных с растительности в 2021-2023 гг.

Исследовано клещей	Выявлена ДНК <i>B.burgdorferisensulato</i>		Выявлена ДНК <i>B.burgdorferisensulato</i> , в том числе											
			Выявлена ДНК <i>B.gariniisensulato</i> в том числе										Микст-инфицирование <i>B.gariniis.l.</i> + <i>B.afzelii</i>	
			ДНК <i>B.afzelii</i>		ДНК <i>B.gariniisensulato</i>		ДНК <i>B.gariniisensulato</i>		ДНК <i>B.bavariensis</i>		Микст-инфицирование <i>B.gariniisensulato</i> + <i>B.bavariensis</i>			
418	159	38,0 (33,38-42,69)	75	47,2 (39,41-54,92)	75	47,2 (39,41-54,92)	46	61,3 (50,31-72,35)	54	72,0 (61,83-82,16)	40	53,3 (42,04-64,62)	33	20,75 (14,45-27,05)

Таким образом, в 418 клещах *I.persulcatus*, собранных с растительности, ДНК *B.afzelii* была выявлена в 17,9% (95% ДИ: 14,26-21,62%), ДНК *B.gariniis.s.* – в 11% (95% ДИ: 8,0-14,0%), ДНК *B.bavariensis* – 12,9% (95% ДИ: 9,7-16,13%) случаев. Показатель инфицированности *B.afzelii* клещей *I.persulcatus* оказался статистически значимо выше такового для *B.garinii s.s.* ($t=2,86$; $p<0,05$) и *B.bavariensis* ($t=2,02$; $p<0,05$), при этом статистически значимых различий показателей инфицированности клещей *B.garinii s.s.* и *B.bavariensis* не выявлено.

Также были исследованы иксодовые клещи, удалённые после присасывания к человеку на территории Хабаровского края. В результате определения видовой принадлежности генетический материал боррелий *B.garinii sensu lato* (*B.garinii sensu stricto* + *B.bavariensis*) был выявлен в 53,63% (95% ДИ: 48,46-58,79%) проб, в которых на первом этапе была детектирована ДНК боррелий комплекса *B.burgdorferisensulato*. ДНК *B.afzelii* содержали 27,65% (95% ДИ: 23,02-32,28%) проб. При этом микст-инфицирование было отмечено в 9,77% (95% ДИ: 6,70-12,85%) случаев (табл. 2).

Таблица 2.
Инфицированность боррелиями комплекса *B.burgdorferisensulato* клещей рода *Ixodes*, удалённых после присасывания от населения Хабаровского края

Выявле- на ДНК <i>B. burgdorferi sensulato</i>	Выявлена ДНК <i>B.garinii sensulato</i>								Выявлена ДНК <i>B.afzelii</i>		Микст- инфицирование е <i>B.gariniis.l.+B.afzelii</i>	
	ДНК <i>B.garinii sensu lato</i>		ДНК <i>B.garinii sensu stricto</i>		ДНК <i>B.bavarensis</i>		Микст- инфицировани е <i>B.garinii sensu stricto</i> + <i>B.bavarensis</i>					
	Абс.	%(95% ДИ)	Абс.	%(95% ДИ)	Абс.	%(95% ДИ)	Абс.	%(95% ДИ)	Абс.	%(95% ДИ)	Абс.	%(95% ДИ)
358	192	53,63 (48,46-58,79)	106	55,20 (48,17-62,24)	78	40,62 (33,67-47,57)	58	30,20 (23,71-36,70)	99	27,65 (23,02-32,28)	35	9,77 (6,70-12,85)

Показатель инфицированности *B.garinii s.s.* оказался статистически значимо выше показателя *B.bavariensis* ($t=2,40$; $p<0,05$). Различия показателей инфицированности клещей *B.afzelii* и *B.bavariensis* оказались статистически не значимыми.

Показатели инфицированности *B.afzelii* клещей, удалённых после присасывания к человеку, оказались статистически значимо выше в сравнении с таковыми для клещей, собранных с растительности ($t=4,23$; $p<0,05$). Показатели инфицированности *B.bavariensis* клещей, удалённых после присасывания к человеку, также оказались статистически значимо выше в сравнении с таковыми для клещей, собранных с растительности ($t=2,80$; $p<0,05$). При этом статистически значимых различий пока-

зателей инфицированности голодных и напивавшихся клещей *B.garinii* s.s. не выявлено ($t=0,16$; $p>0,05$).

Статистически значимое превышение показателя инфицированности *B.afzelii* клещей *I.persulcatus* – основного вектора возбудителей ИКБ в Хабаровском крае – по сравнению с другими видами возбудителей ИКБ позволяет предположить наибольший удельный вес мигрирующей эритемы (МЭ) и хронического атрофического акродерматита (ХААД) среди клинических проявлений ИКБ у заболевших на территории Хабаровского края. Вышеизложенное обуславливает необходимость видовой идентификации возбудителей ИКБ в клиническом материале от заболевших и анализа клинических проявлений в зависимости от этиологии заболевания, что будет являться продолжением настоящего исследования.

Проведённые исследования подтверждают необходимость ежегодного эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга, выявления экологических особенностей различных видов боррелий и степени эпидемической опасности природных очагов ИКБ на территории Хабаровского края.

Литература:

1. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы «клещ-возбудители» в условиях усиливающегося антропогенного пресса. СПб.: Инсанта, 2008. – 146 с.
2. Багаутдинова Л.И., Платонов А.Е., Сарксян Д.С., Стуколова О.В. и др. Катамнез больных иксодовыми клещевыми боррелиозами, вызванными *Borrelia miyamotoi* или *Borrelia burgdorferi sensu lato*. // Терапевтический архив. – 2016. - №11. – С. 43-54.
3. Берлизова М.В. Лубова В.А., Курловская А.В., Леонова Г.Н. Иксодовые клещи как переносчики возбудителей природно-очаговых заболеваний в эпидемический сезон 2017 г. на территории Приморского края // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2018. – № 73. – С. 4 -12.
4. Горелова Н.Б., Коренберг Э.И., Постик Д. и др. Первая изоляция *Borrelia burgdorferi sensu stricto* в России // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2001. – № 4. – С. 10- 12.
5. Драгомерецкая А.Г., Мжельская Т.В., Троценко О.Е., Бондаренко Е.И. Инфицированность переносчиков и случаи заражения людей *Borrelia miyamotoi* на территории Хабаровского края / Библиотека инфекционной патологии. - Хабаровск, 2017. - 14 с.
6. Ковальский, А.Г. Полещук Д.Н., Светашева А.В., Драгомерецкая А.Г. и др. Состояние популяций переносчиков и резервуарных хозяев возбудителей клещевых трансмиссивных инфекций на территории г. Хабаровска и пригородной зоны в 2020 году // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2021. – №40. – С. 99-102.
7. Коренберг Э.И., Нефедова В.В., Фадеева И.А., Горелова Н.Б. Основные итоги генотипирования боррелий в России // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. - Приложение 1. – С. 87-92
8. Мухачева Т.А. Молекулярно-генетическая характеристика возбудителей иксодового клещевого боррелиоза в природных очагах на территории России: Дис. ... канд. биол. наук. – Екатеринбург: Урал. фед. ун-т. – 2015. – 121 с.
9. Рудакова С.А. Пенъевская Н.А., Блох А.И., Савельев Д.А. и др. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2019 г. в сравнении с периодом 2002-2018 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. -2020. - №3. – С. 131-138.
10. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пенъевская Н.А. и др. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023. - №2. – С. 75–87.
11. Branda J.A., Steere A.C. Laboratory Diagnosis of Lyme Borreliosis. // Clin Microbiol Rev. 2021. – № 2, Vol. 34. – P.369-385.
12. Bobe J.R., Jutras B.L., Horn E.J. Recent Progress in Lyme Disease and Remaining Challenges. // Front Med (Lausanne). – 2021. – Vol. 8. – P. 2296-2858.
13. Coipan, E.C., Jahfari S., Fonville M., et al. Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi* s.l. multi-locus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. // Infect. Genet. Evol. – 2016. – № 42. – P.66–76.
14. Crowder C.D., Matthews H.E., Schutzer S., Rounds M.A. et al. Genotypic variation and mixtures of Lyme *Borrelia* in Ixodes ticks from North America and Europe. // PLoS One. – 2010. – № 5, Vol. 5. – P.645-670.
15. Cutler S.J. Relapsing fever borreliae: a global review. // Clin Lab Med. – 2015. – Vol. 35. – P. 847-865.
16. Eisen, L. Vector competence studies with hard ticks and *Borrelia burgdorferi sensu lato* spirochetes: a review. // Ticks Tick Borne Dis. – 2020. – №3, Vol. 11. – P. 1877-1959.
17. Jahfari S., Krawczyk A., Coipan E.C., Fonville M. et al. Enzootic origins for clinical manifestations of Lyme borreliosis. // Infection, Genetics and Evolution. – 2017. – Vol. 49. – P. 48-54.
18. Ornstein K. Barbour A.G. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay of *Borrelia burgdorferi* 16S rRNA for highly sensitive quantification of pathogen load in a vector. // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2006. - №1, Vol. 6. – P. 103-112.

19. Postic D., Assous M.V., Grimont P.A. et al. Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons // Int J Syst Bacteriol. – 1994. – № 4, Vol. 44. – P. 743-752
20. Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Vysochina N.P., Belozerova N.B., Ivanov L.I. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in ixodid ticks in the Far East of Russia. // International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife. – 2019. - №8.– С.192-202.
21. Stanek G., Reiter M. The expanding Lyme *Borrelia* complex – clinical significance of genomic species. // Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – №4, Vol.17. – P. 487-493.
22. Steinbrink A., Brugger K., Margos G., Kraiczy P., Klimpel S. The evolving story of *Borrelia burgdorferi* sensu lato transmission in Europe. // Parasitol Res. – 2022. – №3, Vol.121. – P. 781-803.

Сведения об ответственном авторе:

Белкина Надежда Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других природно-очаговых инфекций отдела ПОИ ФБУН Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, e-mail: hniiem-poi.labke@bk.ru