

УДК 576.895.412:616.022

О. Р. КНЯЗЕВА¹, И. А. ФЕДОРОВА², Е. И. БЫЧКОВА², А. Г. КРАСЬКО¹**ОЦЕНКА ВИДОВОГО СОСТАВА, ЧИСЛЕННОСТИ И СТЕПЕНИ ЗАРАЖЕННОСТИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ СПИРОХЕТАМИ КОМПЛЕКСА *BORRELIA BURGDORFERI* S. L. НА УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ МИНСКОЙ ОБЛАСТИ**¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, e-mail: ol1207@tut.by,²Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, e-mail: elritma@tut.by

(Поступила в редакцию 01.07.2013)

Введение. Иксодовые клещи – кровососущие членистоногие, переносчики опасных вирусных и бактериальных патогенов, в том числе возбудителей Лайм-боррелиоза, спирохет *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s. l.).

Иксодовый клещевой боррелиоз, или болезнь Лайма – трансмиссивное, инфекционное заболевание, занимающее по широте распространения одно из ведущих мест среди природно-очаговых заболеваний. Возбудители болезни Лайма – спирохеты, относящиеся к комплексу *Borrelia burgdorferi* s. l. (*B. burgdorferi* s. l.), включающему в себя 18 геновидов [1]. В настоящее время патогенность для человека доказана для трех геновидов боррелий: *Borrelia afzelii* (*B. afzelii*), *Borrelia garinii* (*B. garinii*), *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi* s. s.) [2]. На территории нашей республики основное эпидемическое значение в распространении болезни Лайма имеет *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (*I. ricinus* L.). В 2012 г. количество обратившихся в учреждения организации здравоохранения с жалобами на присасывание иксодовых клещей составило 54 348 (из них по г. Минску и Минской области – 23 848 случаев).

Целью исследований являлось изучение роли иксодовых клещей в распространении возбудителей Лайм-боррелиоза на урбанизированных территориях населенных пунктов Минской области и определение их видового выявленного возбудителя.

Материалы и методы исследования. Учеты численности имаго иксодовых клещей с растительности проводились согласно общепринятым методикам [3]. Определение видовой принадлежности собранного материала проводилось по таблицам Н. А. Филипповой [4].

Выделение тотальной нуклеиновой кислоты из клещей проводили с помощью комплекта реагентов «Рибо-преп» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Детекцию *Borrelia burgdorferi* s. l. в собранных клещах осуществляли с использованием метода полимеразной цепной реакции. Амплификации подвергали переменный межгенный спейсерный регион 5S rrf – 23S rrl рибосомальной ДНК [5]. Результаты амплификации анализировали методом электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле с последующим учетом с помощью геледокументирующей системы Molecular Imager Gel Doc XR+ Imaging System (Bio-Rad, USA).

Полученные ПЦР-продукты секвенировали для проведения типирования изолятов. Секвенирующую реакцию проводили с использованием набора Big Die terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, UK).

Результаты и их обсуждение. Распределение иксодовых клещей на урбанизированных территориях. Исследования видового состава и относительной численности иксодовых клещей проводились на территории зеленой зоны трех населенных пунктов Минской области с различной

степенью урбанизационной нагрузки (г. Минск – крупный промышленный центр, г. Молодечно – город с преобладанием усадебной застройки, д. Ермаки Минского района – населенный пункт с низкой степенью урбанизации). На территории урбандиафтов было зарегистрировано обитание двух видов иксодовых клещей – *I. ricinus* L. и *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 (*D. reticulatus* F.). При этом достоверных различий в относительной численности иксодид на территориях различных населенных пунктов обнаружено не было ($p \geq 0,05$) (рисунок).

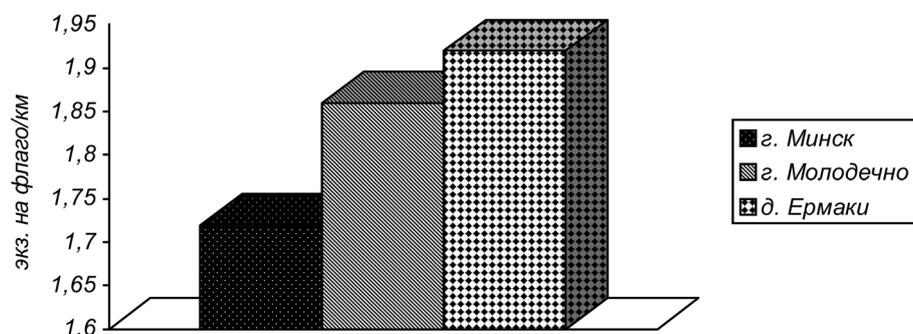
Как видно из диаграммы, максимальная численность иксодовых клещей была отмечена на территории д. Ермаки. Вероятно, это связано с тем, что окрестности деревни граничат с естественными биотопами, кроме того, на данных территориях не проводятся специальных мероприятий по снижению численности различных стадий развития иксодид и их прокормителей.

Анализ данных по биотопическому распределению иксодовых клещей на урбанизированных территориях показал, что клещи *I. ricinus* L. предпочитают лесные массивы с преобладанием хвойных пород деревьев. Часто это неблагоустроенные или частично благоустроенные территории природного комплекса, которые в силу разрастания города были включены в его черту и в настоящее время являются активно посещаемыми зонами отдыха для населения крупных микрорайонов. В связи с тем что в пределах городской черты лесопарки представляют собой часть естественных лесных биоценозов, они обладают большой экологической емкостью в отношении иксодовых клещей. Во-первых, это крупные лесные массивы с хорошо развитым древостоем, который создает микроклиматические условия, необходимые для нормального онтогенеза всех фаз иксодовых клещей (температуры, влажности и др.). Во-вторых, ежегодное накопление опада создает мощную лесную подстилку, которая защищает поверхностные слои почвы от пересыхания и эрозии, является аккумулятором влаги. Напитавшиеся самки клещей откладывают яйца в лесную подстилку, которая предохраняет их от высыхания в летне-осеннее время и вымерзания в зимний период года. В-третьих, хорошо развитый ярус подлеска создает оптимальные условия для обитания мелких млекопитающих и птиц, которые являются основными прокормителями преимагинальных стадий иксодид. Кроме того, подобные территории используются населением в качестве зон отдыха, а это приводит к накоплению бытовых и пищевых отходов, которые активно используют микромаммалии для построения гнезд и питания.

Все вышеперечисленные условия способствуют поддержанию высокой численности иксодид ($2,91 \pm 0,28$ экз. на флаго/км) на данных территориях.

D. reticulatus F. регистрировался в основном на открытых территориях, что связано с экологическими особенностями данного вида иксодовых клещей. Чаще всего основными биотопами были суходольные и пойменные луга, пустыри, а также древесно-кустарниковая растительность вблизи рек и водоемов. Средняя относительная численность данного вида клеща составила $2,1 \pm 0,57$ экз. на флаго/км.

Анализ зараженности иксодовых клещей возбудителем болезни Лайма. Для проведения исследований на предмет зараженности иксодовых клещей боррелиями в однотипных биотопах урбанизированных территорий Минской области было отловлено и исследовано методом полимеразной цепной реакции 102 клеща *I. ricinus* L. В 22 выявлены спирохеты рода *Borrelia*. Результаты зараженности клещей по точкам сбора представлены в табл. 1.



Относительная численность иксодовых клещей на урбанизированных территориях Минской области

Т а б л и ц а 1. Частота присутствия ДНК видового комплекса *Borrelia burgdorferi* s. l. в популяциях иксодовых клещей *Ixodes ricinus* L.

Точка сбора	Степень зараженности разных стадий развития клещей боррелиями, в числителе – абсолютное число, в знаменателе – процент от общего количества зараженных		
	нимфы	самцы	самки
д. Ермаки, Минская область	–	$\frac{1}{10\%}$	–
г. Минск	–	$\frac{5}{14,7\%}$	$\frac{10}{25,6\%}$
г. Молодечно	–	$\frac{4}{50\%}$	$\frac{2}{33,3\%}$
Всего	–	$\frac{10}{16,1\%}$	$\frac{12}{22,9\%}$

При анализе результатов амплификации ДНК, выделенной из клещей видоспецифичными праймерами к спейсерному региону 5S-23S рДНК для спирохет комплекса *B. burgdorferi* s. l., было выявлено, что средняя зараженность клещей боррелиями составила 21,6 %.

Для определения этиологической структуры возбудителя пробы были подвергнуты дальнейшему анализу для установления первичной нуклеотидной последовательности фрагмента межгенного спейсера rrf (5S) – rrl (23S) рДНК *B. burgdorferi* s. l. и фрагмента гена флагеллина. Сравнение полученных последовательностей с базой данных GenBank позволило выявить циркуляцию четырех видов *B. burgdorferi* s. s., *B. garinii*, *B. afzelii* (патогенны для человека), *B. valasiana* (условно патогенна). Результаты генотипирования видового комплекса *Borrelia burgdorferi* s. l. по территориям представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Генотипирование видового комплекса *B. burgdorferi* s. l. на территориях Минской области

Точка сбора	Идентифицированные виды боррелий, абсолютное число, в числителе – абсолютное число, в знаменателе – процент от общего количества инфицированных клещей				
	<i>B. afzelii</i>	<i>B. burgdorferi</i> s. s.	<i>B. garinii</i>	<i>B. valasiana</i>	<i>B. burgdorferi</i> s. l.
д. Ермаки	–	$\frac{1}{100\%}$	–	–	–
г. Минск	$\frac{4}{26,7\%}$	$\frac{4}{26,7\%}$	$\frac{4}{26,7\%}$	$\frac{1}{6,7\%}$	$\frac{1}{6,7\%}$
г. Молодечно	$\frac{1}{16,7\%}$	–	$\frac{1}{16,7\%}$	–	–
Всего	$\frac{12}{54,5\%}$	$\frac{3}{13,6\%}$	$\frac{1}{4,6\%}$	$\frac{1}{4,6\%}$	$\frac{1}{4,6\%}$

Установлено, что на исследуемых территориях преобладающим видом является *B. afzelii* (54,5 %).

Заключение. На урбанизированных территориях Минской области зарегистрировано обитание двух видов иксодовых клещей – *I. ricinus* L. и *D. reticulatus* F. Максимальная относительная численность *I. ricinus* отмечена в лесных массивах с преобладанием хвойных пород деревьев (2,91±0,28 экз. на флажок/км).

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа в клещах *I. ricinus* L., собранных на территориях зеленых зон населенных пунктов Минской области, выявлена циркуляция четырех видов спирохет рода *Borrelia*, три из которых являются патогенными для человека (*B. burgdorferi* s. s., *B. garinii*, *B. afzelii*), один вид обладает условной патогенностью (*B. valasiana*). Доминирующий вид на исследуемых территориях представлен *B. afzelii* (54,5 %).

Литература

1. Margos G., Vollmer S. A., Ogden N. H., Fish D. // J. Inf., Gen. and Evol. 2011. Vol. 11. P. 1545–1563.
2. Wang G., Van Dam A. P., Schwartz I., Dankert J. // J. Clin. Microbiol. 1999. Vol. 12. P. 633–653.
3. Арзамасов И. Т. Иксодовые клещи. Мн., 1961.
4. Филиппова Н. А. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. Фауна СССР. Паукообразные. Л., 1977, Т IV, № 4.
5. Rudenko N., Golovchenko M., Grubhoffer L., Oliver J. H. // J. of Clin. Microbiol. 2009. Vol. 47, № 1. P. 134–141.

O. R. KNIAZEVA, I. A. FEDOROVA, E. I. BYCHKOVA, A. G. KRASKO

ASSESSMENT OF SPECIES COMPOSITION, POPULATION SIZE AND THE DEGREE OF PENETRATION OF IXODES TICKS OF THE SPIROCHETE *BORRELIA BURGdorFERI* S. L. ON THE URBANIZED TERRITORIES OF MINSK REGION

Summary

The investigation of the species composition, habitat distribution and relative abundance of ticks, as well as the degree of contamination of tick-borne borreliosis pathogens, were conducted in the urbanized areas of the Minsk region.

The subtypes of *Borrelia burgdorferi* isolated from *Ixodes ricinus* L., which were collected in the residential areas with different degrees of urbanization, were determined by sequencing *B. afzelii* was the main subtypes of *Borrelia* spirochetes – 54,5 %.