

**ИКСОДОВЫЙ КЛЕЩЕВОЙ БОРРЕЛИОЗ НА ТЕРРИТОРИИ
ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ: ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И
ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

Б.В. РОМАШОВ¹

доктор биологических наук

Н.С. ВОЛГИНА²

кандидат биологических наук

А.В. ШТАННИКОВ³

кандидат биологических наук

Н.Б. РОМАШОВА¹

кандидат биологических наук

Д.В. ТРАНКВИЛЕВСКИЙ⁴

кандидат ветеринарных наук

Ю.О. БАХМЕТЬЕВА⁴

соискатель

¹ Воронежский государственный природный биосферный заповедник,
e-mail: byrom@rambler.ru, bynrom@rambler.ru

² Ветеринарная клиника «Центр», г. Москва

³ Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск

⁴ Центр гигиены и эпидемиологии по Воронежской области, г. Воронеж

На территории Воронежской области устойчиво функционируют природные очаги иксодового клещевого боррелиоза. Выявлено два вида возбудителей болезни Лайма – *Borrelia afzelii* и *B. garinii*. Переносчиком и резервентом боррелий являются *Ixodes ricinus*, зараженность которых составляет 25,8 %. Вблизи населенных пунктов установлено увеличение встречаемости боррелий в клещах. Численность иксодесов в теплое время года, в среднем, составляет 2,2 экз. на флаго/км. 18,3 % домашних собак заражены боррелиями.

Ключевые слова: боррелиоз, *Ixodes ricinus*, *Borrelia* spp., природные экосистемы, собаки, Воронежская область.

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) (синонимы: Лайм-боррелиоз, боррелиоз Лайма, болезнь Лайма) – это группа природно-очаговых зоонозов с трансмиссивным механизмом передачи возбудителей. Возбудители ИКБ относятся к роду *Borrelia* семейства *Spirochaetaceae*. Патогенные для человека и животных виды боррелий объединяют в комплекс *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.). Переносчики боррелий – клещи рода *Ixodes*.

Территория России является наиболее протяженным (от побережья Балтийского моря до Тихого океана) регионом ИКБ в мире. Случаи заболевания отмечены чаще в лесной и лесостепной зонах России [2–7]. В природных очагах возбудители ИКБ циркулируют в составе системы «иксодовые клещи ↔ дикие животные». Установлена трансфазовая передача боррелий у большинства иксодовых клещей, трансвариально возбудители, как правило,

не передаются [1]. Основное эпидемическое значение на территории России имеют два вида клещей рода *Ixodes* (*I. persulcatus* и *I. ricinus*), характеризующиеся чрезвычайно широким кругом прокормителей и наибольшей агрессивностью по отношению к человеку и домашним плотоядным. Ареал возбудителей ИКБ в России совпадает с ареалами иксодовых клещей [2, 6]. В центральных и восточных районах и на отдельных территориях лесной зоны Европейской части России наиболее распространенным является *I. persulcatus*, а в более южных и западных районах – *I. ricinus*.

Природные очаги болезни циркулируют в рамках популяционных группировок всех компонентов паразитарной системы – боррелий, иксодовых клещей (все стадии развития) и диких млекопитающих. Возможно, в циркуляции участвуют и другие группы позвоночных в качестве резервуарных хозяев.

Риск заражения и частота заболеваний человека и домашних животных определяются количественными и качественными параметрами всех компонентов паразитарной системы в природных очагах ИКБ. Главными экологическими факторами риска заражения являются число зараженных клещей и интенсивность контакта с ними животных (и человека). В свою очередь, на обсемененность иксодовых клещей возбудителями трансмиссивных болезней влияют численность клещей, видовое разнообразие, численность животных-прокормителей и степень их зараженности боррелиями.

Следовательно, для оценки эпидемического и эпизоотического рисков в отношении ИКБ необходимы сведения, характеризующие эколого-биологические особенности циркуляции боррелий в условиях конкретных территорий. В данном контексте актуальным является изучение этих аспектов взаимоотношений между основными компонентами паразитарной системы очага – иксодовыми клещами, боррелиями, животными-прокормителями, включая вероятных резервуарных хозяев.

В Воронежской области зарегистрирован целый ряд природно-очаговых болезней человека и животных [8, 10], в том числе передаваемых через иксодовых клещей [9]. В последнее время на территории области постоянно отмечают случаи заболевания людей «местным» (эндемическим) ИКБ, что указывает на существование здесь устойчивых природных очагов инфекции. На данной территории специальных исследований, посвященных Лайм-боррелиозам не проводилось. Имеются лишь немногочисленные и фрагментарные данные по фауне и видовому разнообразию иксодовых клещей. В этой связи изучение экологических, эпизоотологических и эпидемиологических проблем ИКБ на данной территории актуально.

Материалы и методы

Территория Воронежской области расположена преимущественно в лесостепной зоне. Наиболее характерными экологическими чертами этой территории является сочетание открытых пространств с островными лесами. Последние представляют собой «острова» наиболее высокого видового разнообразия и численности фаунистических и флористических комплексов. В этих условиях, как правило, сосредоточен и основной потенциал возбудителей природно-очаговых инфекций и инвазий. Крупнейшим островным лесом Воронежской области является Усманский бор, на территории которого расположен Воронежский заповедник. Заповедник и сопредельные территории выбраны нами в качестве полигона для проведения исследований, посвященных изучению эколого-биологических и эпизоотологических аспектов ИКБ, а также определенных оценок инфекционного потенциала и лоймологического риска в отношении этой инфекции в условиях лесостепной зоны центра Европейской России.

Сбор материалов производили в Воронежском заповеднике и на сопредельных территориях с апреля по октябрь 2008–2009 гг. Материалами для исследований служили иксодовые клещи родов *Ixodes* и *Dermacentor*, домаш-

ние собаки. Сбор клещей проводили в соответствии с принятыми методиками – на флаго/км. На выделенных маршрутах учитывали видовое разнообразие, относительную численность и половозрастной состав иксодовых клещей. В период исследований регистрировали метеорологические параметры – колебания суточной температуры и влажность. На выделенных 7 маршрутах за полевой сезон отработано более 300 флаго/км и собрано свыше 2000 экз. иксодовых клещей.

Зараженных боррелиями иксодовых клещей выявляли при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ее модификации – ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Этими методами исследовано 368 экз. взрослых и нимф *I. ricinus*. Для обнаружения в содержимом кишечника клеща ДНК патогенных боррелий из группы *B. burgdorferi s.l.* в качестве матрицы для амплификации использовали часть *OspA*-гена, кодирующего главный поверхностный липопротеин. Для идентификации и генотипирования боррелий использовали модификацию метода ПЦР, основанную на амплификации области разделяющей тандем 5S и 23S рибосомальных генов. Эти гены у представителей *B. burgdorferi s.l.* дублированы. По-видимому, такая комбинация не встречается ни у энтеробактерий, ни у других групп боррелий, что делает этот спайсер уникальной и удобной матрицей для генотипирования. Его нуклеотидная последовательность отличается у различных геновидов *B. burgdorferi s.l.*, что выявляется при рестрикции получаемых в ПЦР амплификатов.

Продукты рестрикции анализировали по картине их распределения при электрофорезе в полиакриламидном геле (ПДРФ-ПЦР). Для повышения чувствительности все исследуемые образцы были тестированы в режиме «гнездовой» ПЦР (nest-PCR).

Для оценки уровня инфицированности собак проведены серологические исследования. Всего на этой территории исследовано 82 собаки. Серодиагностику боррелиоза у собак для выявления зараженных и иммунных животных проводили иммунохимическими методами, используя разработанные собственные тест-системы для ELISA и WB на основе суммарного клеточного антигена боррелий. При необходимости, для улучшения чувствительности и специфичности иммунохимической тест-системы в нее дополнительно вводили рекомбинантные и синтетические антигены ВВК 32, DbpA, Vls E, клонированные из региональных изолятов. В качестве контроля использовали сыворотки животных с достоверным диагнозом болезни Лайма и моноклональные антитела из референс-панели, предоставленные CDC (USA). Кроме разработанных тест-систем, тестирование сывороток проводили коммерческими наборами, разработанными на основе VlsE домена.

Результаты и обсуждение

В течение полевых сезонов 2008–2009 гг. на исследуемой территории отмечено два вида иксодовых клещей сем. Ixodidae – *I. ricinus* и *D. reticulatus*. Случаи появления активных клещей были зафиксированы во второй половине марта, с момента начала таянья снега и перехода среднесуточных температур через 1 °С. На каждом из маршрутов нами проведена оценка относительной численности клещей. Совокупно величина относительной численности составила, в среднем, 3,4 экз. на флаго/км, соответственно, *I. ricinus* – 2,2, *D. reticulatus* – 1,2 экз. В период сезона активности прослежена динамика численности (активности) иксодовых клещей по месяцам (рис. 1).

Для *D. reticulatus* характерен апрельский пик численности, для *I. ricinus* отмечен ярко выраженный пик численности в мае с последующим некоторым снижением активности вплоть до середины лета. Минимальные показатели численности у обоих видов отмечены в июле. В последующие три месяца наблюдали постепенное нарастание численности, но величины, в сравнении с весенними, были существенно ниже.

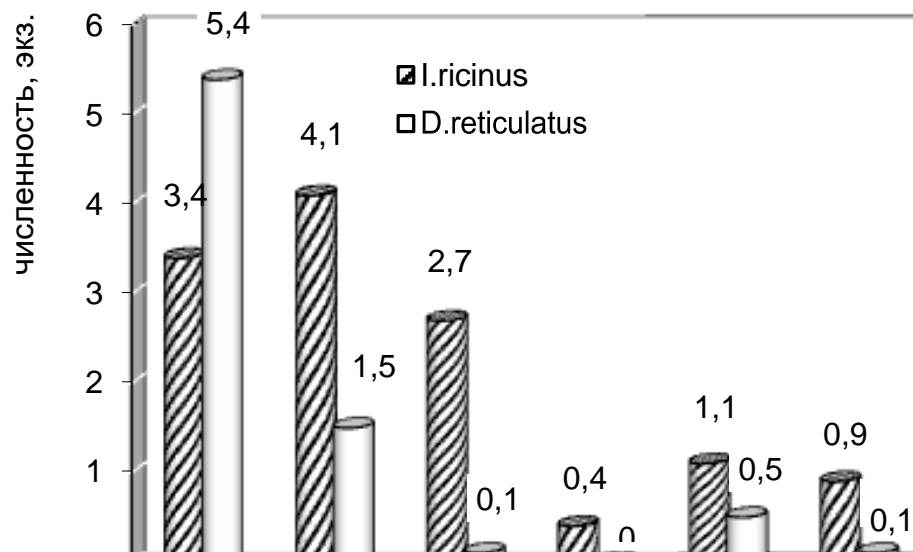


Рис. 1. Сезонная динамика относительной численности *I. ricinus* и *D. reticulatus* (на флаго/км) на территории Воронежского заповедника

Показатели относительной численности двух видов иксодид существенно варьировали. Так, в первой декаде апреля численность *D. reticulatus*, соответственно и активность, в 2 и более раз превышала аналогичный показатель у *I. ricinus* (рис. 2). К концу апреля наблюдали выравнивание этих показателей, а уже с начала мая и до конца августа регистрировали доминирование *I. ricinus*. Причем нарастание индексов относительной численности *I. ricinus* мы регистрировали вплоть до третьей декады мая. Далее наблюдали выравнивание, а затем постепенное снижение их численности вплоть до второй декады августа.

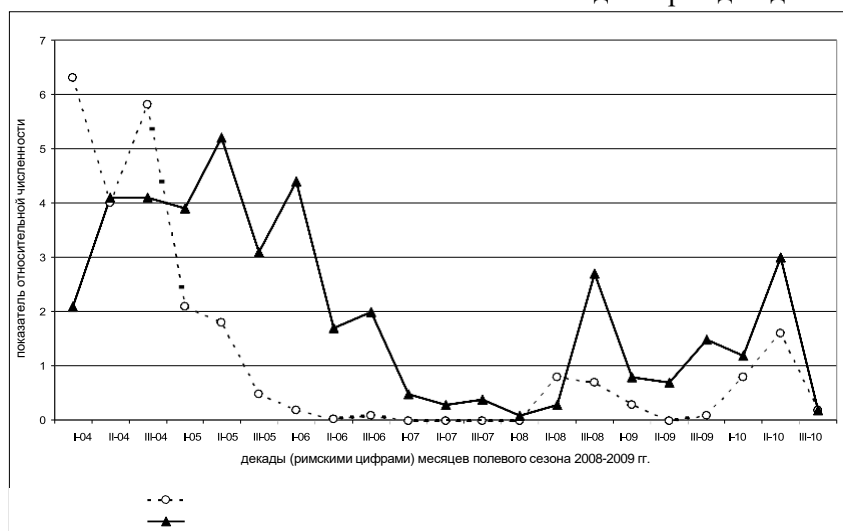


Рис. 2. Данные подекадной динамики относительной численности иксодовых клещей (*I. ricinus*, *D. reticulatus*) на территории Воронежского заповедника (полевой сезон, апрель–октябрь 2009 г.).

В третьей декаде июня нарастание относительной численности *I. ricinus* (рис. 2) мы связываем с повышением влажности вследствие выпадения в этот период осадков. В последующем наиболее устойчивое повышение активности обоих видов иксодовых клещей отмечено во второй и третьей декадах сентября и первой декаде октября. Основным фактором этого возрастания активности являются атмосферные осадки, которые впервые после длительной паузы (2,5 мес) выпали лишь во второй декаде сентября.

Наиболее высокие показатели численности *I. ricinus* зарегистрированы около населенных пунктов, что указывает на тяготение иксодовых клещей к жилью человека и проявление или, возможно, усиление «синантропизации *Ixodes*». Напротив, для *D. reticulatus* подобных особенностей не выявлено.

В местности с высокой численностью *D. reticulatus*, *I. ricinus* выявлены в незначительном количестве. Это можно объяснить влиянием трофико-хорологических связей. *D. reticulatus* тяготеет к открытым участкам леса, где в начале весны наблюдается наиболее высокая активность диких копытных: кабанов, косуль, лосей и оленей, которые являются основными прокормителями имаго *D. reticulatus*. Кроме того, возможны конкурентные отношения между этими видами иксодовых клещей. В апреле доминантным видом в этой местности является *D. reticulatus*.

Выявлена прямая зависимость между активностью клещей и атмосферными факторами. Уровень корреляции (r) изменяется в течение сезона активности клещей от 0,4 до 0,7. Весной отмечена наиболее тесная зависимость ($r = 0,7$; $P < 0,01$) активности клещей с температурой и влажностью. Максимум активности зарегистрирован при температуре воздуха от 17 до 20 °С и влажности свыше 50 %. При повышении температуры воздуха свыше 25 °С и влажности менее 50 % наблюдали снижение активности клещей.

I. ricinus исследовали методом ПЦР на наличие боррелий. По результатам анализа содержимого кишечника 368 клещей (взрослых и нимф) положительный сигнал на присутствие ДНК *OspA* гена боррелий *B. burgdorferi s.l.* был зафиксирован в 88 образцах, или 23,9 %. Показатели обсемененности имаго и нимф клещей характеризуются примерно равными величинами, 24,1 и 21,9 % соответственно. Видовой состав боррелий, циркулирующих в различных биотопах Воронежского заповедника, представлен видами из группы *B. burgdorferi sensu lato*. В образцах клещей обнаружены ДНК *B. afzelii* и *B. garinii 20047*. В содержимом кишечника одного клеща обнаружена ДНК обоих видов боррелий (табл.).

Обсемененность клещей боррелиями на территории Воронежского заповедника

Стадия развития клеща, пол	Исслед. клещей, экз.	Заражено		Возбудитель
		кол-во	%	
Имаго, самцы	198	35	17,7	<i>B. afzelii</i> – 26; <i>B. garinii 20047</i> – 7; mix (<i>B. afzelii</i> + <i>B. garinii 20047</i>) – 1; не идентиф. – 1
Имаго, самки	138	46	33,3	<i>B. afzelii</i> – 30; <i>B. garinii 20047</i> – 13; не идентиф. – 3
Всего имаго	338	81	24,1	<i>B. afzelii</i> – 56; <i>B. garinii 20047</i> – 20; mix (<i>B. afzelii</i> + <i>B. garinii 20047</i>) – 1; не идентиф. – 4
Нимфы	32	7	21,9	<i>B. afzelii</i> – 4; <i>B. garinii 20047</i> – 3

Всего	368	88	23,9	<i>B. afzelii</i> – 60; <i>B. garinii</i> 20047 – 23; mix (<i>B.afzelii</i> + <i>B.garinii</i> 20047) – 1; не идентиф. – 4
-------	-----	----	------	---

Наиболее высокая зараженность клещей (36,0 %) отмечена в экологических станциях, расположенных вблизи жилья человека (Центральная усадьба Воронежского заповедника и другие населенные пункты), которые являются зоной наиболее высокого эпидемиологического и эпизоотологического рисков в отношении ИКБ.

Выявлены существенные различия по встречаемости боррелий у *I. ricinus* разного пола. Так, обсемененность боррелиями самок клещей составила 33,3, а самцов 17,7 %.

В содержимом кишечника двух *I. ricinus* обнаружили ДНК *Anaplasma phagocytophilum*. Степень зараженности клещей *I. ricinus* возбудителями ГЭЧ составила 0,5 %.

Собаки являются также прокормителями иксодовых клещей. Они подвержены высокому риску инфицирования боррелиями. Обследовали 82 собаки из 21 населенного пункта. На основании серологических исследований боррелиоз диагностирован у 15 собак (18,3 %). Титры антител в сыворотке крови собак варьировали от 1,031 до 2,532. При этом среди положительно реагирующих собак большая часть (40 %) диагностирована в районе Центральной усадьбы заповедника, где зарегистрирована и самая высокая обсемененность *I. ricinus* боррелиями. Можно предположить, что собаки играют роль в циркуляции ИКБ в условиях природных экосистем.

Таким образом, по результатам исследований, проведенных в природных экосистемах Воронежской области, можно констатировать, что на территории Воронежского заповедника устойчиво функционирует природный очаг ИКБ. Выявлено два вида возбудителей болезни Лайма – *B. afzelii* и *B. garinii*. Переносчиком и резервентом боррелий являются *I. ricinus*, зараженность которых на исследуемой территории составляет 23,9 %. Вблизи населенных пунктов наблюдается увеличение встречаемости боррелий в клещах. Численность *I. ricinus* в теплое время года составила, в среднем, 2,2 экз. на флажок/км. Отмечена 18,3%-ная зараженность собак боррелиями. В образцах содержимого кишечника двух *I. ricinus* обнаружено присутствие ДНК возбудителя ГЭЧ (*A. phagocytophilum*).

Литература

1. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В. Симбиотические отношения в сложной системе переносчик – возбудители болезней // Докл. Академии Наук. – 1994. Т. 338, № 2. – С. 259–261.
2. Коренберг Э.И. Резервуарные хозяева и переносчики боррелий – возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в России // Журнал микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 1997. – № 6. – С. 36–38.
3. Коренберг Э.И., Горелова Н.Б., Ковалевский Ю.В. Основные черты природной очаговости иксодовых клещевых боррелиозов // Паразитология. – 2002. – Т. 36, № 3. – С. 177–191.
4. Коренберг Э.И., Крючечников В.Н. Иксодовые клещевые боррелиозы – новая группа заболеваний человека // Журнал микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 1996, № 4. – С. 104–107.
5. Коренберг Э.И., Крючечников В.Н., Деконенко Е.П. и др. Серологическое выявление болезни Лайма в СССР // Журнал микробиол., эпидемиол., иммунобиол. – 1986. – № 6. – С. 111–113.
6. Коренберг Э.И., Щербаков С.В., Крючечников В.Н. Материалы по распространению болезни Лайма в СССР // Мед. паразитол. – 1987. – № 2. – С. 71–73.

7. Наумов Р.Л., Васильева И.С. Пораженность населения боррелиями и заболеваемость болезнью Лайма // Мед. паразитол. – 2005. – № 2. – С. 40–42.

8. Ромашов Б.В., Василенко В.В., Рогов М.В. Трихинеллез в Центральном Черноземье (Воронежская область): экология и биология трихинелл, эпизоотология, профилактика и мониторинг трихинеллеза. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2006. – 181 с.

9. Ромашов Б.В., Пустовит Н.С., Штанников А.В. и др. Обнаружение природного очага иксодового боррелиоза в Воронежской области // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М., 2009. – Вып. 10. – С. 318–321.

10. Ромашов Б.В., Ромашов В.А., Семенов В.А., Филимонова Л.В. Описторхоз в бассейне Верхнего Дона (Воронежская область): фауна описторхид, эколого-биологические закономерности циркуляции и очаговость описторхозов. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2005. – 201 с.

Lyme disease in Voronezh region: ecological and epizootic specials

**B.V. Romashov, N.S. Volgina, A.V. Shtannikov, N.B. Romashova,
D.V. Trankvilevsky, Y.O. Bakhmeteva**

In Voronezh region registered on the natural center of Lyme disease. It is revealed two species agents of Lyme disease – *Borrelia afzelii* and *B. garinii*. Infection by borreliae of ticks (*Ixodes ricinus*) is 23,9 %. Infection by borreliae of dogs is 18,3 %.

Keywords: borreliosis, *Ixodes ricinus*, *Borrelia spp.*, natural ecosystem, dogs, Voronezh area.

