

Генотипирование возбудителей иксодового клещевого боррелиоза и возвратной клещевой лихорадки в периферической крови больных и в иксодовых клещах из Томской области

Филатова Е.Н.¹, Ильинских Е.Н.¹, Бондаренко Е.И.²

¹ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск

²АО Вектор-Бест, Новосибирск

● **Цель исследования:** Клиническая характеристика случая возвратной клещевой лихорадки (ВКЛ) с генотипированием изолята *Borrelia miyamotoi*, выделенного из периферической крови пациента, а также анализ частоты выявления ДНК-маркеров *B. miyamotoi* и возбудителя иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) *B. burgdorferi* s.l. среди больных клещевыми инфекциями и в образцах иксодовых клещей в г. Томске.

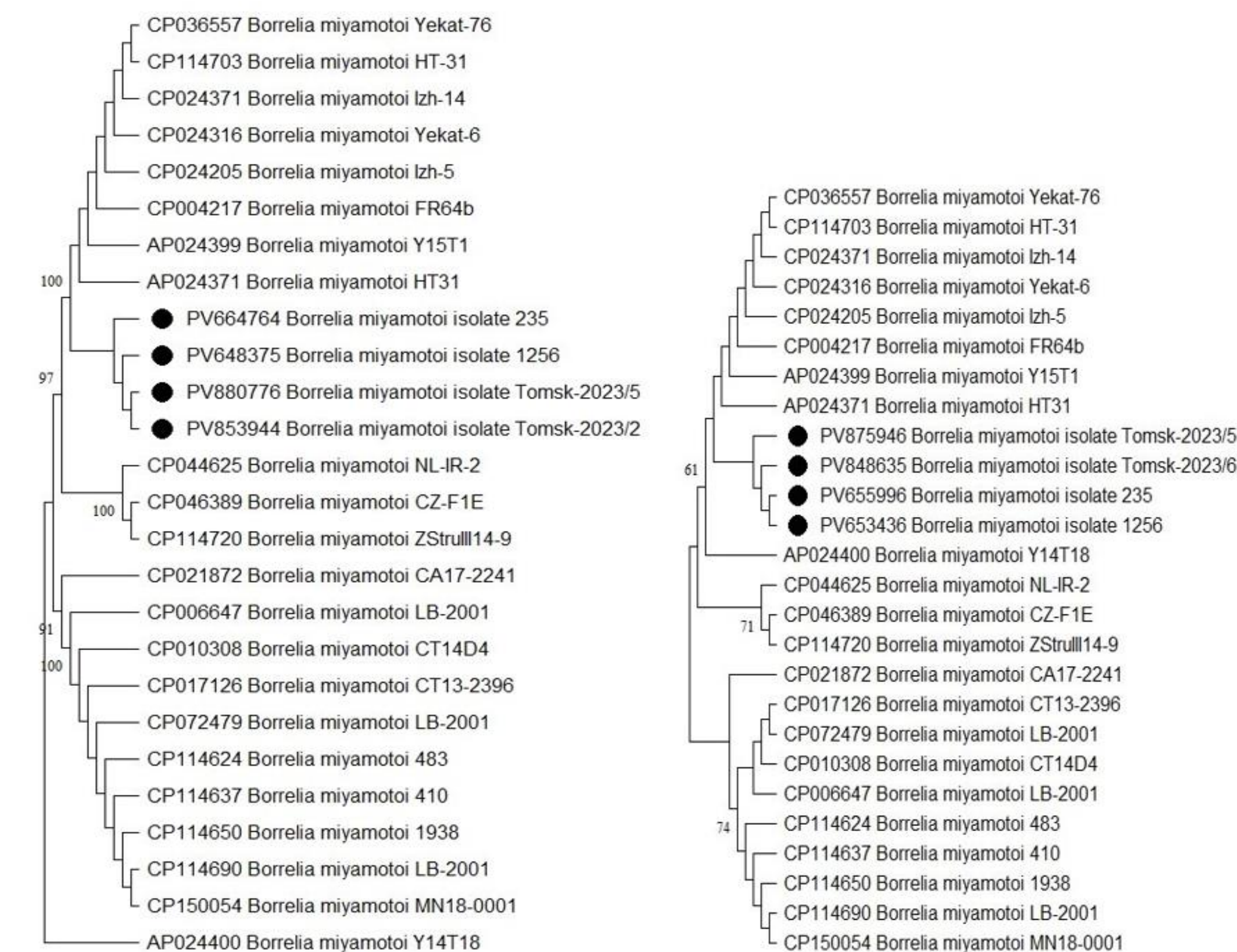
● **Материалы и методы.** Клинический материал был получен от 26 больных госпитализированных летом 2024 г. с подозрением на клещевые инфекции. Материалом для исследования служили образцы периферической крови. От пациентов были получены образцы цельной крови (ЦК), лейкоцитарной фракции крови (ЛФК) и плазмы. Лабораторная верификация диагнозов проводилась комплексно: с применением твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с последующим секвенированием полученных ДНК последовательностей, построением филогенетических деревьев и депонированием их в базе данных GenBank. Кроме того, на наличие ДНК-маркеров боррелий, возбудителей ИКБ и КВЛ, был проведен ПЦР-анализ 287 имаго иксодовых клещей трех видов: *Ixodes persulcatus*, *I. pavlovskyi* и *Dermacentor reticulatus*, собранных на флаг с растительности летом 2022 г. на территории г. Томска. Амплификацию ДНК проводили на термоциклере с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «CFX 96». Положительные образцы ДНК, содержащие генетический маркер *B. miyamotoi*, использовали для дальнейшей амплификации фрагментов трех генов, *gfpQ*, *23S rRNA* и *recA*, с последующим секвенированием полученных последовательностей.

● **Результаты.** ДНК-маркер возбудителя ИКБ выявлен в образцах суспензий 5,9% проанализированных клещей. Доля зараженных боррелиями группы *B. burgdorferi* s.l., среди разных видов иксодид существенно различалась: среди *I. persulcatus* составила 20%, среди *I. pavlovskyi* – 28%, а среди выборки клещей *D. reticulatus* – только в 1,7% случаев. Доля инфицирования возбудителем ВКЛ (возвратная клещевая лихорадка) *B. miyamotoi* вида *I. persulcatus* составила 6,7%, в то время как *I. pavlovskyi* – 4%. ПЦР-анализ 232 клещей вида *D. reticulatus* на наличие генетического маркера *B. miyamotoi* не дал положительных результатов. При этом в одной из суспензий клеща *I. persulcatus* были обнаружены генетические маркеры возбудителей ВКЛ и ИКБ одновременно, что свидетельствует о возможности коинфицирования клещей. В случае ранее проведенного ПЦР-анализа клещей *D. reticulatus*, не было обнаружено зараженности этого вида возбудителем ВКЛ. Можно предположить, что вид *D. reticulatus* не выступает резервуаром этой инфекции, а полученные нами данные об обнаружении ДНК-маркеров *B. miyamotoi* в 4% и 6,7% клещей *I. pavlovskyi* и *I. persulcatus* в г. Томске, согласуются с результатами исследований инфицированности иксодовых клещей *B. miyamotoi* в других регионах России.

У 4 из 26 (15,4%) обследуемых пациентов в ЛФК и плазме с помощью ПЦР-РВ была выявлена низкая нагрузка ДНК *B. burgdorferi* s.l., возбудителей ИКБ. При этом в половине случаев у этих больных подтверждена микст-инфекция КЭ и безэритемной формы ИКБ. Результаты ПЦР-анализа свидетельствовали о наличии ДНК-маркера *B. miyamotoi* в периферической крови у 1 из 26 (3,8%) обследованных. Инкубационный период составил 14 дней. Заболевание началось остро с фебрильной лихорадки и озноба, имело среднюю степень тяжести течения, сопровождалось выраженной слабостью, утомляемостью, сонливостью, умеренной головной болью и тошнотой. Кожные покровы чистые, печень и селезенка не увеличены. В биохимическом анализе крови выявлено умеренное повышение выше нормы активности уровней аминотрансфераз; в общем анализе крови были изменения в виде относительного нейтрофилёза, лимфоцитопении, а также тромбоцитопении. Результаты ИФА на АТ к АГ вируса КЭ в крови: IgM – отрицательны, IgG – положительны, IgM и IgG к АГ *B. burgdorferi* s.l. – отрицательны. Пациенту ошибочно был поставлен диагноз: острый КЭ, лихорадочная форма, средней степени тяжести. Однако использование ПЦР-РВ позволило выявить ДНК-маркер *B. miyamotoi* сразу в трех видах образцов: в ЛФК, плазме и ЦК, а выделенные ДНК последовательности были секвенированы, филогенетически проанализированы и депонированы в базе данных GenBank (рисунок).

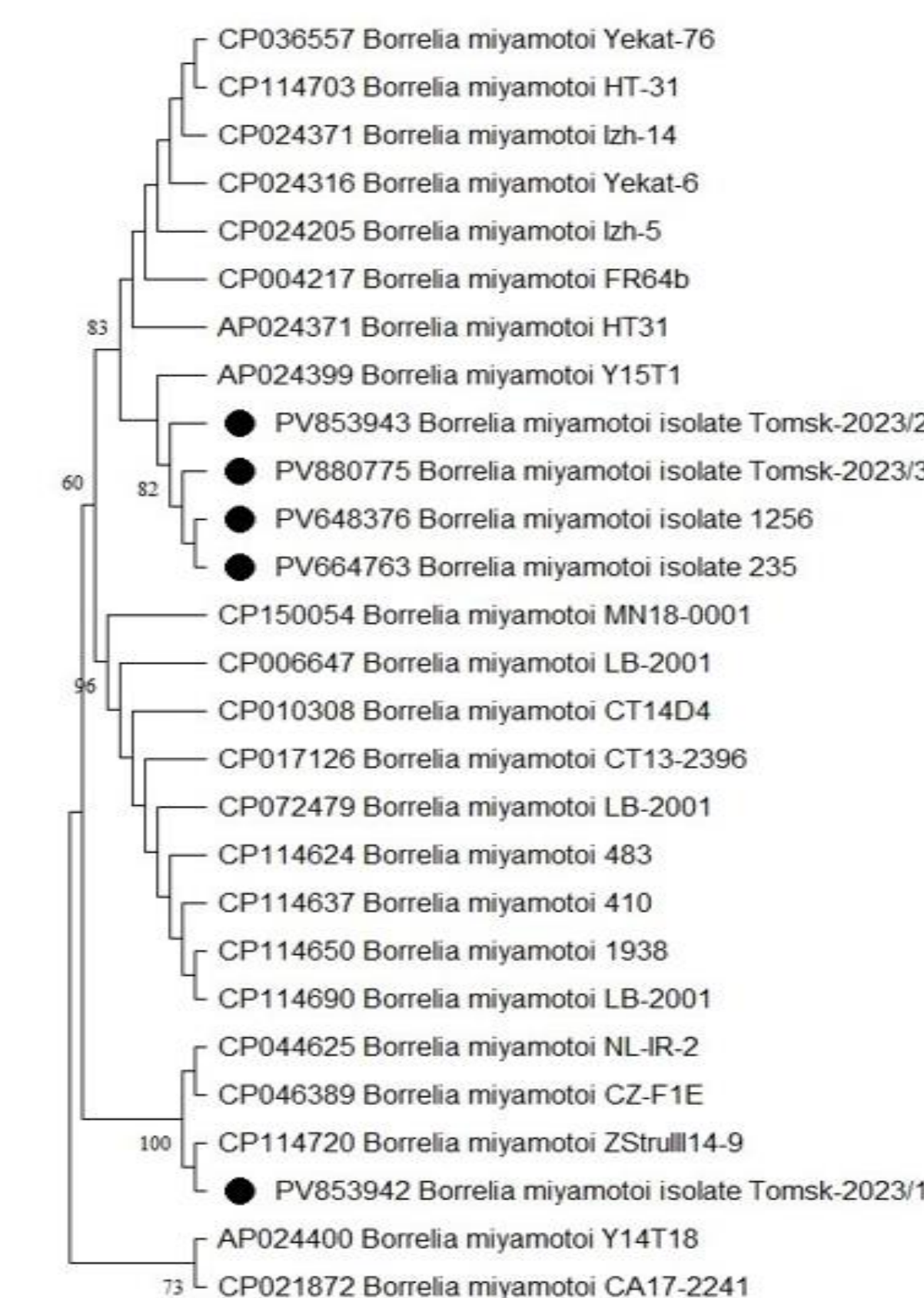
● **Вывод.** Инфицированность на территории г. Томска боррелиями группы *B. burgdorferi* s.l. иксодовых клещей вида *I. persulcatus* составила 20%, *I. pavlovskyi* – 28%, а клещей *D. reticulatus* – только 1,7%. В 6,7 % иксодовых клещей вида *I. persulcatus* и в 4% вида *I. pavlovskyi* был обнаружен ДНК-маркер *B. miyamotoi* возбудителя ВКЛ. ПЦР-анализ позволил обнаружить ДНК-маркер *B. burgdorferi* s.l. в периферической крови у 15,4% обследованных нами больных, а маркер *B. miyamotoi* – у одного пациента. Заболевание ВКЛ начиналось остро с выраженными проявлениями лихорадочно-интоксикационного синдрома, по сравнению с ИКБ. Результаты секвенирования и филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей, показал, что все ДНК-последовательности, полученные от человека и клещей, относятся к различным штаммам *B. miyamotoi*.

● **Благодарности.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20010, <https://rscf.ru/project/22-15-20010/> и средств Администрации Томской области.



А

Б



В

Рисунок. Результаты секвенирования ДНК последовательностей *B. miyamotoi*, выделенных из периферической крови больного с клещевой возвратной лихорадкой. Филогенетические деревья, построенные методом максимального правдоподобия с использованием эволюционной модели GTR для фрагментов генов *gfpQ* (А), *23S rRNA* (Б) и *recA* (В). Полученные в исследовании нуклеотидные последовательности фрагментов ДНК *B. miyamotoi*, выделены черными кружками.