

**КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ**

УДК 576.895.421

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОЙ ТРАНСОВАРИАЛЬНОЙ  
И ТРАНСФАЗОВОЙ ПЕРЕДАЧИ БОРРЕЛИЙ  
КЛЕЩАМИ *DERMACENTOR RETICULATUS* (IXODIDAE)**

© С. А. Рудакова, Е. В. Матушенко, В. В. Якименко,  
Н. К. Токаревич, Ю. В. Андрейчук

Проведено исследование возможной трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий клещами *D. reticulatus*. Показана принципиальная возможность передачи боррелий клещами этого вида, спонтанно инфицированными и экспериментально зараженными. Хотя боррелии в организме клещей *D. reticulatus* сохраняются, но на всех этапах исследования различных фаз развития *D. reticulatus* установлены низкие показатели инфицированности клещей. *D. reticulatus* может вовлекаться в процесс циркуляции боррелий в природных очагах ИКБ, но не имеет сколько-нибудь существенного значения для его поддержания.

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) — широко распространенная группа природно-очаговых инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*. Роль клещей *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930 как основного переносчика боррелий в Западно-Сибирском регионе доказана (Коренберг и др., 1987, 1990, 1997; Матушенко и др., 1993). Лесостепные ландшафты юга Западной Сибири характеризуются наличием 2 фоновых видов иксодовых клещей: *I. persulcatus* и *Dermacentor reticulatus* Fabr., 1794. Вопрос об участии клещей *D. reticulatus* в передаче боррелий человеку остается до настоящего времени открытым. При исследовании клещей *D. reticulatus* методами иммунофлуоресценции нами была показана зараженность переносчиков данного вида боррелиями в 5.8 % случаев (Рудакова и др., 1996). Однако изолировать этих боррелий из клещей *D. reticulatus* на среде BSK-H не удалось. При исследовании переносчиков методом ПЦР с применением рестрикционного анализа ранее было показано наличие боррелий, близких к *Borrelia afzelii* в 4.8 % случаев (Рудакова и др., 2002).

Циркуляция боррелий в природных очагах ИКБ осуществляется клещами и мелкими млекопитающими, но возбудитель может также сохраняться в клещах и без участия млекопитающих, только за счет вертикальной (трансвариальной и горизонтальной) трансфазовой передачи (по крайней мере некоторое время или некоторое число циклов развития клещей). Способность к трансвариальной и трансфазовой передаче боррелий клещами *I. persulcatus* уже доказана (Коренберг и др., 1988; Балашов и др., 1998; Нефедова, 2003), что касается клещей *D. reticulatus*, то данные о возможной передаче боррелий потомству в литературе не приводятся.

Целью настоящей работы явилось изучение возможной трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий клещами *D. reticulatus*.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для проведения данной работы было поставлено 3 эксперимента с применением моделирования естественного цикла метаморфоза переносчиков. 1-й эксперимент поставлен с целью установления возможности трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий потомству от спонтанно инфицированных самок и самцов. Первый эксперимент включал спонтанно зараженных боррелиями имаго *D. reticulatus* обоих полов, собранных в природном очаге (с. Подгородка Омского р-на Омской обл.), предварительно тестированных на инфицированность боррелиями. Для этого собранных клещей индивидуально подкармливали 2—3 сут на белых мышах, затем исследовали мазок гемолимфы в РНИФ с гипериммунной сывороткой. В итоге было отобрано 5 пар клещей, содержащих боррелий в гемолимфе.

Целью проведения 2-го эксперимента являлось выяснение возможности заражения неинфицированных имаго клещей *D. reticulatus* при совместном питании со спонтанно инфицированными имаго *I. persulcatus* с последующим изучением зараженности боррелиями поколения от каждого вида клещей. Второй эксперимент включал неинфицированных голодных имаго *D. reticulatus* обоих полов и спонтанно инфицированных клещей *I. persulcatus*, собранных в том же природном очаге, которых прокармливали совместно на белых мышах. Отбор спонтанно инфицированных клещей *I. persulcatus* проводили аналогично таковому *D. reticulatus*.

Цель проведения 3-го эксперимента совпадает с целью первого, т. е. установление возможности трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий потомству, но зараженные родительские пары клещей получены при экспериментальном заражении особей известным штаммом боррелий. 3-й эксперимент состоял из неинфицированных имаго *D. reticulatus* обоего пола, которые были накормлены на лабораторной белой мыши, зараженной штаммом *B. afzelii* Ir-5215, любезно предоставленным профессором Э. И. Коренбергом (НИИЭМ им. Гамалеи, г. Москва).

Содержание в лабораторных условиях культуры клещей, кормление, получение потомства осуществляли по Тагильцеву с соавт. (1990). Яйцекладка начиналась на 4—8-й день после кормления. Часть потомства (личинок и нимф) исследовали на наличие боррелий в голодном состоянии, часть клещей кормили на сосунках лабораторных белых мышей как для последующего исследования сытых личинок и нимф для целей контроля результатов исследования наличия или отсутствия боррелий в голодных личинках и нимфах, так и для получения следующей фазы развития клеща. Кормление преимагинальных фаз осуществляли по одной особи или пулами — до 20 личинок или до 5 нимф. Для определения наличия боррелий потомство каждой линии (по 100—150 личинок и 20—50 нимф) индивидуально исследовали в РНИФ с гипериммунной сывороткой индивидуально (как голодных, так и после кормления). Всего исследовано 7 линий клещей, в том числе 6 — *D. reticulatus* и 1 — *I. persulcatus*. У 5 пар спонтанно инфицированных клещей *D. reticulatus* было исследовано в РНИФ индивидуально 530 личинок, 274 нимфы и 61 имаго; у спонтанно инфицированных *I. persulcatus* и свободный от боррелий пары *D. reticulatus* после совместного кормления на одном лабораторном животном исследовано — 36 личинок и 108 личинок и

18 нимф соответственно. Личинки и нимфы для определения геновида боррелий были исследованы методом ПЦР-ПДРФ. У экспериментально инфицированных штаммом *B. afzelii* клещей *D. reticulatus* исследована самка после яйцекладки и 270 голодных личинок методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием полученных ампликонов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение вертикальной и горизонтальной передачи у спонтанно инфицированных клещей *D. reticulatus*. Исследование потомства спонтанно инфицированных *D. reticulatus* позволяет отметить следующее. Боррелии были обнаружены у всех фаз развития клещей (табл. 1).

У голодных личинок регистрируется значительный разброс величины уровня носительства боррелий (от 0 до 4.5 %). У напитавшихся личинок эта величина составляла от 10.5 до 13.3 % и была достаточно однородной. Инфицированность сытых нимф регистрировалась в 2–0.5 раза ниже, чем у сытых личинок (в пределах одних и тех же линий). Регистрируемый средний уровень инфицированности имаго (без разделения по полу) примерно соответствовал инфицированности сытых нимф. По данным ПЦР, в личинках *D. reticulatus* обнаруживались ДНК боррелий.

Изучение возможности передачи боррелий от клещей *I. persulcatus* клещам *D. reticulatus* при совместном питании. После совместного питания на одном животном *D. reticulatus* (самки и самца), в гемолимфе которых не было обнаружено боррелий, инфицированной самки *I. persulcatus* в потомстве обоих видов клещей обнаружены боррелии. Уровень пораженности боррелиями напитавшихся личинок (при пуловом кормлении) *I. persulcatus* и *D. reticulatus* был фактически идентичен и составлял 8.3 и 9.2 % соответственно (табл. 2). Методом ПЦР в личинках *I. persulcatus* и нимфах *D. reticulatus* определен геновид боррелий — *B. afzelii*.

Таким образом, боррелии обнаруживались как у голодных, так и у напитавшихся личинок и нимф. Низкий уровень выявления боррелий при исследовании голодных особей и повышение инфицированности после кормления может быть связан как с так называемым механизмом реактивации, так и с обменом между преимагинальными фазами развития (личинки или нимфы) при пуловом кормлении. Отмечено некоторое снижение уровня

Таблица 1

Эффективность трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий у спонтанно инфицированных клещей *Dermacentor reticulatus*

Table 1. The effectiveness of transovarial and transphase transmission of borreliae in spontaneously infected ticks *Dermacentor reticulatus*

Фазы развития клещей	Голодные			Напитавшиеся			Всего		
	Иssl.	Полож.	P ± 2m	Иssl.	Полож.	P ± 2m	Иssl.	Полож.	P ± 2m
Личинки	220	7	3.2 ± 2.4	180	20	11.0 ± 4.6	400	27	6.8 ± 2.6
Нимфы	72	2	2.8 ± 3.8	78	4	5.1 ± 5.0	150	6	4.0 ± 3.2

Примечание (здесь и в табл. 2). P — % осуществленной трансфазовой и трансвариальной передачи боррелий, m — ошибка показателя.

Таблица 2

Эффективность трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий у клещей *Dermacentor reticulatus*, инфицированных при совместном питании с имаго *Ixodes persulcatus*

Table 2. The effectiveness of transovarial and transphase transmission of boreliae in the ticks *Dermacentor reticulatus* infected during a joint feeding with the imago of *Ixodes persulcatus*

Фазы развития клещей	Голодные			Напитавшиеся			Всего		
	Иssl.	Полож.	P ± 2m	Иssl.	Полож.	P ± 2m	Иssl.	Полож.	P ± 2m
<i>D. reticulatus</i>									
Личинки	36	0	0	108	10	9.3 ± 5.6	108	10	9.3 ± 5.6
Нимфы	36	1	2.8 ± 5.4	18	3	16.7 ± 16.8	18	3	16.7 ± 16.8
Имаго	61	6	9.8 ± 7.6	—	—	—	61	6	9.8 ± 7.6
<i>I. persulcatus</i>									
Личинки	36	0	0	36	3	8.3 ± 9.2	72	3	4.2 ± 4.8

инфицированности в процессе метаморфоза от личинок к нимфам. Показана принципиальная возможность вертикальной передачи боррелий этим видом клещей от имаго до имаго.

Изучение вертикальной и горизонтальной передачи у экспериментально инфицированных клещей *D. reticulatus*. При питании на лабораторном животном, зараженным штаммом *B. afzelii*, самка инфицировалась и передавала боррелий личинкам, что подтверждается методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием полученных ампликонов. При исследовании 72 голодных личинок методом иммунофлуоресценции зараженные особи выявлены не были; при исследовании 270 голодных личинок методом ПЦР установлена инфицированность в 2.2 % ± 0.9. У самки после яйцекладки и у голодных личинок обнаружился геновид боррелий, идентичный штамму Ir-5215.

В результате проведенных исследований показана принципиальная возможность трансвариальной и трансфазовой передачи боррелий клещами *D. reticulatus* как у спонтанно инфицированных клещей этого вида, так и в случае их экспериментального заражения штаммом боррелий. Вероятно, боррелии в организме клещей *D. reticulatus* сохраняются, но интенсивность размножения низка. В пользу этого предположения говорит и то, что интенсивность инфицирования боррелиями на всех этапах исследования *D. reticulatus* (имаго родительских поколений, личинки и нимфы — голодные и напитавшиеся, имаго дочернего поколения) характеризуется низкими показателями — во всех случаях в РНИФ регистрировались единичные боррелии в нескольких полях зрения. Полученными недавно данными молекулярно-биологических исследований с определением нуклеотидных последовательностей установлено наличие в клещах *D. reticulatus* ДНК боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Рудакова и др., 2004). Не исключено, что боррелии в клещах *D. reticulatus* находятся в некультивируемой форме и выявляются только методом ПЦР. Вероятно также, что способность к трансвариальной и трансфазовой передаче боррелий у клещей *D. reticulatus* свойственна лишь некоторым геновидам боррелий (близких к *B. afzelii*),

поскольку в литературе имеются данные о невозможности такой передачи *B. garinii* клещами *D. silvarum* и *H. concinna* (Sun, Xu, 2003).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что клещи *D. reticulatus* могут вовлекаться в процесс циркуляции боррелий в природных очагах ИКБ, но не имеют сколько-нибудь существенного значения для его поддержания.

#### Список литературы

- Балашов Ю. С., Амосова Л. И., Григорьева Л. А. Трансовариальная и трансфазовая передачи боррелий таежным клещом *Ixodes persulcatus* (Ixodidae) // Паразитология. 1998. Т. 32, вып. 6. С. 489—493.
- Коренберг Э. И., Горелова Н. Б., Постик Д. Резервуарные хозяева и переносчики боррелий — возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов России // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1997. № 6. С. 36—38.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Ковалевский Ю. В. Первые итоги и задачи изучения болезни Лайма в СССР // Вестн. АН СССР. 1990. № 6. С. 52—57.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Ковалевский Ю. В., Крючечников В. Н., Никитина О. В. Передача *Borrelia burgdorferi* от нимф к имаго у клеща *Ixodes persulcatus* Schulze // Докл. АН СССР. 1988. Т. 302, № 3. С. 759—760.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Крючечников В. Н. Материалы по распространению болезни Лайма в СССР // Мед. паразитол. 1987. № 2. С. 71—73.
- Матущенко А. А., Рудакова С. А. К характеристике природных очагов болезни Лайма в отдельных ландшафтных зонах Западной Сибири // Сб. науч. тр. «Проблемы клещевых боррелиозов». М., 1993. С. 133—136.
- Нефедова В. В. Возможность трансовариальной передачи боррелий у таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Schulze) в природных очагах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2003. 17 с.
- Рудакова С. А., Матущенко А. А. О возможном участии клещей *D. reticulatus* в циркуляции боррелий в природных очагах // Тез. докл. Междунар. конф. Иркутск, 1996. С. 95.
- Рудакова С. А., Рудаков Н. В., Токаревич Н. К., Андрейчук Ю. В., Куликов В. Н., Танкибаев М. А., Матущенко А. А., Хазова Т. Г., Рязанцева Г. А., Ястребов В. К. Новые данные о генотипировании возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в Азиатской части России и Казахстане // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2002. Т. 2, № 4. С. 99—101.
- Рудакова С. А., Фоменко Н. В., Тупикин А. Е., Ливанова Н. Н. Результаты генотипирования боррелий в клещах *Dermacentor reticulatus* в Западной Сибири // Медицинская микробиология — XXI век. Саратов, 2004. С. 196—197.
- Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н., Богданов И. И., Якименко В. В. Изучение членистоногих убежищного комплекса в природных очагах трансмиссивных вирусных инфекций // Руководство по работе в полевых и лабораторных условиях. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1990. 106 с.
- Sun Y., Xu R. Ability of *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor silvarum* ticks to acquire and transstadially transmit *Borrelia garinii* // Experimental et Applied Acarology. 2003. N 31 (1—2). P. 151—160.

НИИ природноочаговых инфекций,  
Омск,

Поступила 11 IV 2005

Омская государственная медицинская академия,  
НИИЭМ им. Пастера,  
НПФ «Омникс»,  
Санкт-Петербург

A STUDY OF POSSIBLE TRANSOVARIAL  
AND TRANSPHASE TRANSMISSION OF BORRELIAE  
BY THE TICK DERMACENTOR RETICULATUS (IXODIDAE)

S. A. Rudakova, E. V. Matuschenko, V. V. Yakimenko,  
N. K. Tokarevich, Yu. V. Andrejchuk

*Key words:* *Ixodidae*, *Dermacentor reticulatus*, borreliae, transovarial transmission, transphase transmission.

SUMMARY

A study of possible transovarial and transphase transmission of borreliae by the tick *Dermacentor reticulatus* is carried out. The possibility of borreliae transmission by the ticks of this species being infected spontaneously as well as experimentally is shown in principle. Although borreliae are preserved in the organism of *D. reticulatus*, low values of the infestation are established in the different stages of *D. reticulatus* development and in all steps of the study. *D. reticulatus* may be involved in the process of borreliae circulation in natural foci of tick-born borreliosis, but this species has no a significant importance for the maintenance of it.

---