

О.О. Федулina ¹, В.А. Рар ², О.В. Сунцова ¹, И.В. Козлова ¹**РЕЗУЛЬТАТЫ РЕКОГНОСЦИРОВОЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОБНАРУЖЕНИЮ
ОЧАГОВ БАБЕЗИОЗА НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ**¹ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

В статье приведены результаты рекогносцировочных исследований по поиску очагов babesиоза в Иркутской области. ДНК babesий обнаружена в клещах двух видов (*I. persulcatus*, *H. concinna*) на территории трех районов Иркутской области: Эхирит-Булагатского, Иркутского, Шелеховского. Проведен анализ нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК длиной 1220 н.о. пяти образцов babesий. Показано, что выявленные последовательности babesий отличаются от ранее известных и относятся к двум генетическим группам. В первую группу вошли babesии, генетически наиболее схожие с патогеном овец *Babesia crassa*, ко второй отнесен образец, нуклеотидные последовательности которого существенно отличаются от всех известных (менее 95 % гомологии).

Ключевые слова: babesиоз, генетическая вариабельность, природный очаг

**RESULTS OF RECONNAISSANCE STUDIES ON DETECTION OF BABESIOSIS FOCI
IN THE IRKUTSK REGION**O.O. Fedulina ¹, V.A. Rar ², O.V. Suntsova ¹, I.V. Kozlova ¹¹ Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

This article contains results of reconnaissance studies intended to find foci of babesia in the Irkutsk region. Babesia DNA were founded in two types of ticks (*I. persulcatus*, *H. concinna*) in the three districts of the Irkutsk region (Ekhirit-Bulagatsky, Irkutsky, Shelekhovskiy). The analysis of 1220 nr length nucleotide sequences of 18S rRNA gene of five Babesia samples was conducted. It was shown that the identified Babesia sequenced differ from previously known, and refer to the two genetic groups. The first group included babesia, genetically most similar to the sheep pathogen *Babesia crassa*, second contains sample, nucleotide sequence of which is significantly different from all known (less than 95 % homology).

Key words: babesiosis, genetic variability, natural focus

ВВЕДЕНИЕ

Иксодовые клещи могут быть переносчиками не только возбудителей вирусных и бактериальных инфекций, но и простейших гемопаразитов рода *Babesia*. Бабезиозы вызывают тяжелые заболевания у различных видов диких и домашних животных: крупного рогатого скота, лошадей, овец, собак. В эндемичных зонах зараженность скота babesиями достигает 70–100 % и приносит существенный ущерб животноводству. Тяжелые заболевания, нередко с летальным исходом, вызывают эти возбудители у собак [2]. Бабезиозы человека впервые начали диагностировать с конца 50-х годов прошлого века в Европе (возбудитель *Babesia divergens*), а в конце 60-х годов в США (возбудитель *B. microti*), позже были обнаружены в других странах Америки, в Азии и Африке [1, 5, 6]. В последние десятилетия babesиозы приобретают все большее значение в качестве новых болезней человека. Основная часть случаев babesиоза у людей связана с *B. microti*. В США летальность, вызванная данным возбудителем, составляет около 5 % [8]. Данный патоген обнаружен в Европе, Китае и Японии [4, 9, 10]. В России *B. microti* обнаружены в образцах крови рыжих полевок на территории Среднего Предуралья, в таежных клещах Северо-Западного региона, в грызунах и иксодовых клещах в Западной Сибири и на Дальнем Востоке [3]. В Европе

летальность от babesиоза достигает 40 %. Практически все случаи babesиоза у людей в Европе вызваны *B. divergens*, более редко встречаются *B. venatorum* [1, 4, 9]. Известны единичные случаи заражения человека возбудителем babesиоза скота (*B. bovis*), собак (*B. canis*), оленя (*B. odocoilei*) [1, 7]. Учитывая тот факт, что фактором риска для babesиоза является пониженный клеточный иммунитет, то в эпоху эпидемии ВИЧ-инфекции это может привести к более широкому распространению babesиоза. Кроме того, babesиоз может передаваться при гемотрансфузиях. Это делает проблему изучения babesиозов чрезвычайно актуальной и требует проведения рекогносцировочных исследований в отношении babesиоза на территории Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2010 г. на наличие ДНК babesий были исследованы образцы от 257 экз. клещей *Ixodes persulcatus* и 45 экз. *Haemaphysalis concinna*, собранных на территории Иркутской области.

Суммарные нуклеиновые кислоты экстрагировали из клещей с помощью набора «Рибо-преп». ДНК babesий выявляли методом двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 18S рРНК, как описано в [11].

Таблица 1

Результаты исследования клещей, собранных на территории Иркутской области в 2010 г., на наличие ДНК бабезий

Район сбора клещей	Вид клеща	Количество исследованных проб	Количество (%) проб, содержащих ДНК бабезий
Эхирит-Булагатский район	<i>I. persulcatus</i>	38	3 (7,9 %)
	<i>H. concinna</i>	45	5 (11,1 %)
Иркутский район Байкальский тракт	<i>I. persulcatus.</i>	24	1 (4,2 %)
Иркутский район Голоустненский тракт	<i>I. persulcatus.</i>	87	2 (2,3 %)
Шелеховский район Култукский тракт	<i>I. persulcatus</i>	10	1 (10,0 %)
Усть-Илимский район	<i>I. persulcatus</i>	36	–
Бодайбинский район	<i>I. persulcatus</i>	36	–
Нижнеилимский район	<i>I. persulcatus</i>	26	–
ИТОГО:	<i>I. persulcatus</i>	257	7 (2,7 %)
	<i>H. concinna</i>	45	5 (11,1 %)

Для последующего определения нуклеотидных последовательностей были синтезированы продукты ПЦР длиной 1218–1268 н.п. с использованием в первом раунде ПЦР прямого праймера BS1 (5'-gacgtagggattggcct-3') и обратного праймера BS2 (5'-atcaccggatcactcgatc-3'), а во втором раунде прямого праймера BS3 (5'-cgaggcagcaacgggtaacg-3') или BS5 (5'-cgaggcagcaacgggtaacg-3') и обратного праймера BS4 (5'-agggacgtagtcggcagcag-3'). Праймер BS3 применялся при амплификации фрагмента гена 18S рРНК *B. microti*, а праймер BS5 – при амплификации фрагмента ДНК *B. divergens* и близкородственных бабезий. Праймеры для исследования были любезно предоставлены сотрудником Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

Нуклеотидные последовательности продуктов ПЦР были определены в Центре секвенирования ДНК СО РАН, г. Новосибирск. Сравнение нуклеотидных последовательностей с ранее опубликованными проведено с использованием программы BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), анализ полученных последовательностей выполнен методом ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustal/index.html>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования на наличие очагов бабезиоза проводили в шести районах Иркутской области – Эхирит-Булагатском, Шелеховском, Иркутском, Усть-Илимском, Бодайбинском, Нижнеилимском. ДНК бабезий обнаружена в клещах из трех районов области – Эхирит-Булагатского, Иркутского, Шелеховского. В более северных районах области – Усть-Кутском, Бодайбинском, Нижнеилимском, клещи, инфицированные бабезиями не выявлены. В среднем инфицированность клещей *I. persulcatus* бабезиями составила 2,7 %, *H. concinna* – 11,1 %. Результаты рекогносцировочных исследований приведены в таблице 1.

На сегодняшний день проведен анализ нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК длиной 1220 н.о. шести образцов бабезий. Он показал, что все бабезии, выявленные в иксодовых клещах на территории Иркутской области, отличаются от ранее известных и относятся к двум генетическим группам. К первой

отнесены бабезии, генетически наиболее схожие с патогеном овец *Babesia crassa* (Irk-Ip525, Irk-Ip257, Irk-Ip279, Irk-Hc215, Irk-Ip256) (рис. 1). Уровень сходства между нуклеотидными последовательностями бабезий внутри группы составил 97–99,9 %. Бабезии этой группы обнаружены как в клещах *I. persulcatus*, так и *H. concinna*. Переносчики, инфицированные данными бабезиями, выявлены на территории Эхирит-Булагатского и Иркутского районов Иркутской области.

Во вторую группу вошел образец Irk-Ip655, нуклеотидные последовательности которого существенно отличаются от всех известных (менее 95 % гомологии) (на дендрограмме не показан). Этот вариант бабезий выявлен в клещах *I. persulcatus* на территории Шелеховского района Иркутской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами получены первые данные, свидетельствующие о существовании на территории Иркутской области природных очагов бабезиоза. Впервые на территории региона обнаружены бабезии, которые, по всей видимости, могут иметь ветеринарное значение. На данный момент патогенных для человека бабезий в иксодовых клещах не выявлено, однако рекогносцировочные исследования по поиску бабезий, принимающих участие в патологии людей, необходимо продолжить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.С. Новые болезни, передаваемые клещами рода *Ixodes* (*Ixodidae*). Бабезиозы человека // Пест-Менеджмент = Pest-Management. – 2006. – № 1. – С. 11–13.
2. Рап В.А., Епихина Т.И., Боляхина С.А. Распространенность и генетическое разнообразие бабезий на территории Северного Урала, Западной Сибири и Дальнего Востока // В кн: Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. – Вып. 30, Гл. 9. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. – С. 296–308.
3. Bonnet S., Jouglin M., L'Hostis M., Chauvin A. *Babesia* sp. EU1 from roe deer and transmission within *Ixodes ricinus* // Emerg. Infect. Dis. – 2007. – № 13. – P. 1208–1210.

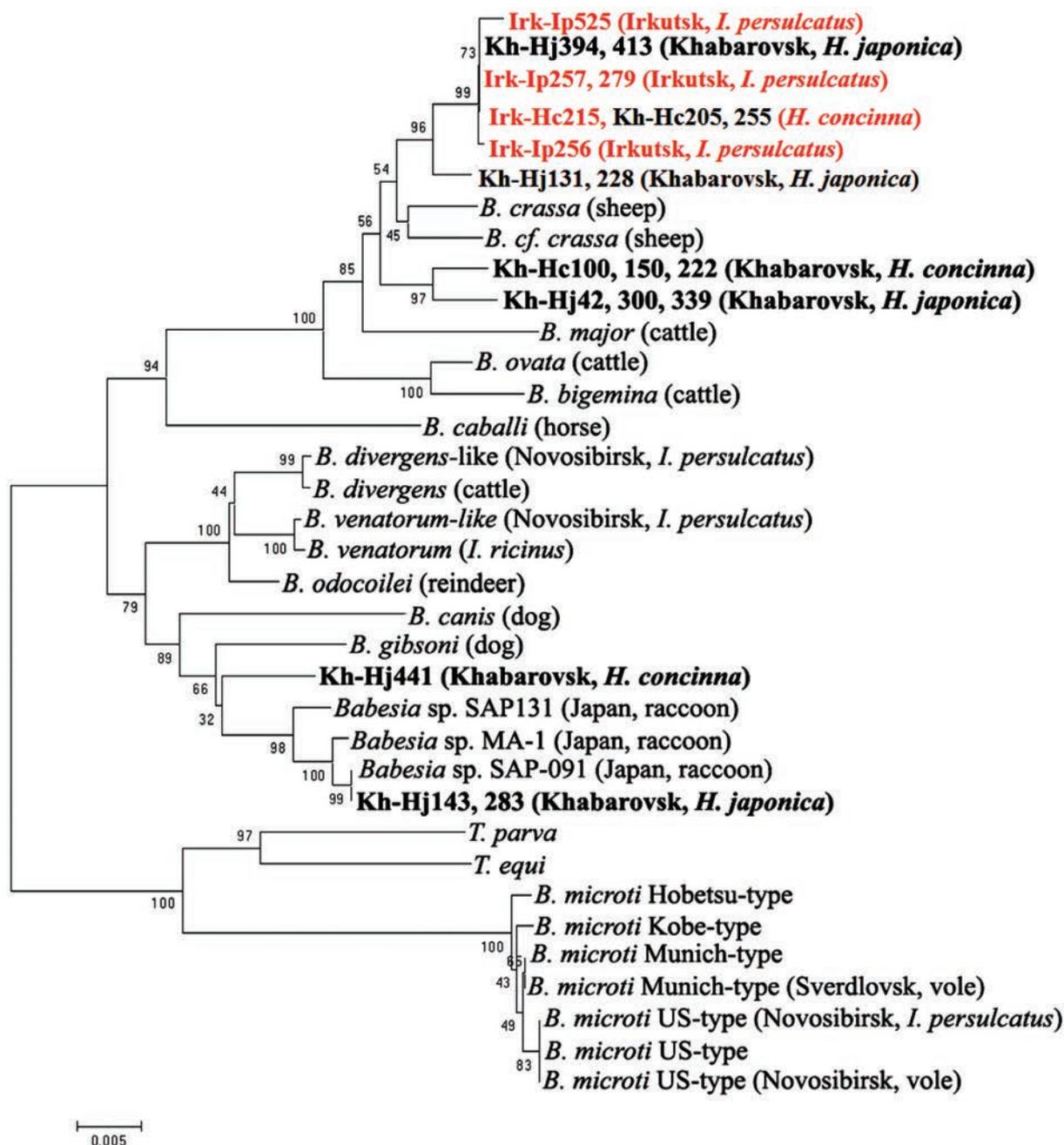


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное на основании сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 18S рРНК длиной 1220 н.о. Шкала представляет 1% дивергенции. Красным шрифтом выделены образцы из Иркутской области.

4. Entomologic and serologic evidence of zoonotic transmission of *Babesia microti*, eastern Switzerland / I.M. Foppa [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 8. – P. 722–726.

5. Gorenflot A., Moubri K., Precigout E. et al. Human babesiosis // Ann. Trop. Med. Parasitol. 1998. – Vol. 92. – P. 489–501.

6. Herwaldt B.L., Caccio S., Gherlinzoni F. et al. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe // Emerg. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 9. – P. 942–948.

7. Hunfeld K.P., Brade V. Zoonotic *Babesia*: possibly emerging pathogens to be considered for tick-infested

humans in Central Europe // Int. J. Med. Microbiol. – 2004. – Vol. 293. – Suppl. 37. – P. 93–103.

8. Hunfeld K.P., Hildebrandt A., Gray J.S. Babesiosis: recent insights into an ancient disease // Int. J. Parasitol. – 2008. – Vol. 38. – P. 1219–1237.

9. Hildebrandt A., Hunfeld K.P., Baier M. et al. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 26. – P. 595–601.

10. Nakajima R., Tsuji M., Oda K. et al. *Babesia microti*-group parasites compared phylogenetically by complete sequencing of the CCTeta gene in 36 isolates // J. Vet. Med. Sci. – 2009. – N 71 (1). – P. 55–68.

11. Rar V.A., Fomenko N.V., Dobrotvorskyy A.K. et al. // Emerg. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 11, N 11. – P. 1708–1715.
Tick-borne pathogen detection, Western Siberia, Russia

Сведения об авторах

Федулина Ольга Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (64003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16)

Рар Вера Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН (630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, т. (383) 363-51-37, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru)

Сунцова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16)