

Работа выполнена в рамках Госзадания ГBS РАН «Гибридизация у растений в природе и культуре: фундаментальные и прикладные аспекты» (№ 122042500074-5).

### **Библиографический список:**

1. Аленичева, А. Д. Памяти Любимовой - первый сорт новой зерновой культуры × *Trititrigia cziczinii* Tzvelev / А. Д. Аленичева, С. В. Завгородний, Л. П. Иванова [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 97. – С. 23-26.
2. Завгородний, С. В. Морфобиологические и хозяйственно ценные особенности образцов из современной коллекции трититригии (×*Trititrigia cziczinii* Tzvel.) ГBS РАН / С. В. Завгородний, Л. П. Иванова, А. Д. Аленичева [и др.] // Овощи России. – 2022. – № 2. – С. 10-14.
3. Иванова, Л. П. Перспективы использования новой сельскохозяйственной культуры трититригии (×*Trititrigia cziczinii* Tsvelev) в кормопроизводстве / Л. П. Иванова, О. А. Щуклина, И. Н. Ворончихина [и др.] // Кормопроизводство. – 2020. – № 10. – С. 13-16.
4. Щуклина, О. А. Динамика накопления фотосинтетических пигментов в листьях *Trititrigia Cziczinii* Tzvel / О. А. Щуклина, О. Е. Воронина, В. Е. Квитко [и др.] // Плодоводство и ягодоводство России. – 2023. – № 72. – С. 43-49.
5. Щуклина, О. А. Продуктивность, качество и питательная ценность зерна яровой тритикале (×*Triticosecale* Wittm. ex. A. Camus) нового сорта Ботаническая 4 / О. А. Щуклина, А. Д. Аленичева, Е. В. Квитко [и др.] // Кормопроизводство. – 2022. – № 8. – С. 19-24.
6. Щуклина, О. А. Связь элементов структуры колоса с продуктивностью растений образцов × *Trititrigia cziczinii* Tzvel / О. А. Щуклина, С. В. Завгородний, А. Д. Аленичева [и др.] // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 5. – С. 57-69.
7. Shchuklina, O. A. Application of photometry for crops online diagnostics of the nitrogen nutrition of plants / O. A. Shchuklina, N. N. Langaeva, I. N. Voronchikhina [et al.] // IOP conference series: earth and environmental science : Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products Ser. 2, Smolensk, 25 января 2021 года. Vol. 723. – Smolensk, 2021. – P. 022064.

УДК 616.351/995.42:619.9

### **ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ АПРОБАЦИИ ОПТИМИЗИРОВАННОГО МЕТОДА МУЛЬТИЛОКУСНОГО СИКВЕНС- АНАЛИЗА ПАТОГЕННЫХ БОРРЕЛИЙ КОМПЛЕКСА *BORRELIA* *BURGDORFERI* SENSU LATO**

*Крупинская Екатерина Сергеевна*, младший научный сотрудник ФГБУ  
НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, [katekrupp@yandex.ru](mailto:katekrupp@yandex.ru)

**Голидонова Кристина Андреевна**, научный сотрудник ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, [kristi.dekor@mail.ru](mailto:kristi.dekor@mail.ru)

**Горелова Наталья Борисовна**, старший научный сотрудник ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, [gornataliya@yandex.ru](mailto:gornataliya@yandex.ru)

**Транквилевский Дмитрий Валерьевич**, зоолог ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора, [dtrankvilevskij@yandex.ru](mailto:dtrankvilevskij@yandex.ru)

**Аннотация.** Представлены предварительные результаты апробации оптимизированного метода МЛСА группы изолятов неизвестной видовой принадлежности. Обнаружено, что на территории Воронежской области циркулируют не менее 4 видов боррелий патогенных для человека.

**Ключевые слова:** иксодовые клещевые боррелиозы, возбудители, лабораторная диагностика.

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) – это хронические или рецидивирующие трансмиссивные инфекции, поражающие различные системы органов. Возбудителями ИКБ являются бактерии рода *Borrelia*, переносчики которых – несколько видов иксодовых клещей [1]. Все возбудители ИКБ относятся к комплексу *B. burgdorferi sensu lato*, насчитывающего более 20 видов боррелий [2]. К настоящему времени известны не менее 8 патогенных для человека видов боррелий, большинство из которых были обнаружены и на территории России [3].

Для точной и быстрой индикации патогенов в настоящий момент широко используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4], однако он направлен исключительно на выявление в образце ДНК *B. burgdorferi s.l.* Поэтому пока плохо изучены особенности клинических проявлений заболевания, вызванных разными видами боррелий, т.е. точно установленной этиологии. Для решения данной актуальной задачи необходимо на основе ПЦР разработать для клинической лабораторной диагностики метод, который позволил бы идентифицировать вид возбудителя инфекции непосредственно в биологических пробах от клещей и пациентов [5].

Для определения видовой принадлежности боррелий в современных исследованиях широко используют методы мультилокусного сиквенс типирования (МЛСТ) и сиквенс-анализа (МЛСА). Принципиальных различий между результатами, полученными обоими методами, не обнаружено. Выбор метода конкретного МЛС-исследования боррелий зависит от целей и задач исследования [6]. В целом, метод МЛСА во всех отношениях менее затратен [7]. Его недостаток – в трудоемкости: необходима амплификация и секвенирование последовательностей локусов 6 консервативных генов и межгенного спейсера каждого образца.

В 2022 году было предложено оптимизировать МЛСА для лабораторной идентификации боррелий. Оптимизированный подход к МЛСА сводится к выявлению их видовой принадлежности на основании специфики результата

сцепленного анализа локусов только двух генов (*recA* и *ospA*) из 7 локусов, рекомендованных протоколом этого метода. Подобный подход предназначен для использования при необходимости быстрой индикации этиологического агента ИКБ в условиях клинико-диагностических лабораторий лечебных учреждений. Он был предложен по результатам сцепленного компьютерно-программного анализа нуклеотидных последовательностей локусов двух указанных генов у идентифицированных музейных изолятов боррелий [7]. Для подтверждения возможности практической реализации такого подхода необходимо было провести испытание его результативности на изолятах боррелий неизвестной видовой принадлежности.

С целью апробации оптимизированного МЛСА были исследованы 25 изолятов боррелий, полученных в 2021 году из материала кишечника голодных имаго европейского лесного клеща (*Ixodes ricinus* Linnaeus, 1758). Они были собраны с растительности в лесостепной части Воронежской области, где являются хозяевами и единственными переносчиками возбудителей ИКБ.

По результатам секвенирования локусов генов *recA* и *ospA* были построены дендрограммы, одна из которых представлена (рисунок 1). При этом помимо последовательностей 25 исследованных изолятов, использованы сиквенсы аналогичных генов патогенных боррелий базы данных GenBank. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в природном очаге Воронежской области циркулируют не менее 5 различных видов боррелий: ***B. afzelii***, ***B. garinii***, ***B. bavariensis***, *B. valaisiana* и ***B. burgdorferi sensu stricto***. Патогенность для человека 4-х из них (выделены жирным шрифтом) доказана и хорошо известна. Для *B. valaisiana* патогенность пока не доказана, но, судя по литературным данным, весьма вероятна.

По данным секвенирования была построена серия таблиц сходства изолятов. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *recA* выявил, что внутривидовое сходство исследованных изолятов, относящихся к *B. afzelii* (12 изолятов), составило 92,3-100%, к *B. garinii* (5 изолятов) – 93,3-100%, к *B. bavariensis* (4 изолята) – 92,6-100%, к *B. valaisiana* (3 изолята) – 94-100% (таблица 1). Учитывая большое сходство между изолятами одного вида, для построения этой таблицы из каждой группы выбрано по одному изоляту. Кроме того, 1 изолят относился к виду *B. burgdorferi* s.s. С референсными штаммами других видов боррелий отличие у каждой группы изолятов одного вида в основном составило 6-7%.



Таблица 1

**Сходство нуклеотидных последовательностей гена *recA* между изолятами боррелий каждого выявленного вида и их сходство с последовательностями локусов это гена у видов аутгруппы (в %)**

	Ir-6522	Ir-6448	Ir-6470	Ir-6521	Ir-6485	B. afzelii (VS461T)	B. bavariensis (Hiratsuka)	B. bavariensis (PBi)	B. burgdorferi s.s. (B31T)	B. finlandensis (SV1)	B. garinii (20047T)	B. lusitaniae (PotiB2T)	MN14-1539)	B. spielmannii (A14S)	B. valaisiana (VS116T)
B. afzelii (Ir-6522)	100,0														
B. garinii (Ir-6448)	91,9	100,0													
B. bavariensis (Ir-6470)	92,6	99,3	100,0												
B. valaisiana (Ir-6521)	91,3	94,0	93,3	100,0											
B. burgdorferi s.s. (Ir-6485)	94,6	91,3	91,9	94,6	100,0										
B. afzelii (VS461T)	100,0	91,9	92,6	91,3	94,6	100,0									
B. bavariensis (Hiratsuka)	92,6	98,7	99,3	94,0	92,6	92,6	100,0								
B. bavariensis (PBi)	91,9	98,0	98,7	93,3	91,9	91,9	99,3	100,0							
B. burgdorferi s.s. (B31T)	95,3	91,9	92,6	94,0	99,3	95,3	93,3	92,6	100,0						
B. finlandensis (SV1)	93,3	91,9	92,6	94,0	98,0	93,3	93,3	92,6	98,0	100,0					
B. garinii (20047T)	91,3	99,3	98,7	93,3	91,9	91,3	98,0	97,3	92,6	92,6	100,0				
B. lusitaniae (PotiB2T)	93,3	92,6	93,3	92,6	95,3	93,3	94,0	93,3	96,0	96,0	93,3	100,0			
B. mayonii (MN14-1539)	100,0	91,9	92,6	91,3	94,6	100,0	92,6	91,9	95,3	93,3	91,3	93,3	100,0		
B. spielmannii (A14S)	96,0	90,6	91,3	89,9	94,6	96,0	91,3	90,6	95,3	93,3	91,3	93,3	96,0	100,0	
B. valaisiana (VS116T)	91,3	94,0	93,3	100,0	94,6	91,3	94,0	93,3	94,0	94,0	93,3	92,6	91,3	89,9	100,0

На территории Воронежской области, а также граничащих с ней областей специальных исследований, посвященных видовому разнообразию боррелий, практически не проводилось. В настоящий момент имеются лишь фрагментарные данные по видам боррелий, циркулирующих в этом природном очаге. Данная работа может стать первым шагом к изучению циркуляции различных видов боррелий в лесостепной зоне России.

***Благодарность.** Авторы выражают благодарность руководителю исследования, главному научному сотруднику ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, заслуженному деятелю науки РФ, доктору биологических наук, профессору Коренбергу Эдуарду Исаевичу*

### **Библиографический список**

1. Allelic variants of p66 gene in *Borrelia bavariensis* isolates from patients with ixodid tick-borne borreliosis / K. Golidonova [et al.] // *Microorganisms*. – 2022. – Volume 10, Issue 12, 2509. – <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122509>.
2. Radolf, J.D., Samuels, D.S. *Borrelia: Molecular Biology, Host Interaction and Pathogenesis* / J.D. Radolf, D.S. Samuels, Eds. – Caister Academic Press. Poole, UK, 2021. – 234 p. ISBN 978-1-913652-61-6.
3. Нефедова, В.В. Мультилокусный сиквенс-анализ «нетипичных» *Borrelia burgdorferi sensu lato*, изолированных в России / В.В. Нефедова, Э.И. Коренберг, Н.Б. Горелова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2017. – №32. – С. 196-203.
4. Хаммадов, Н.И. Подбор генетических маркеров для выявления ДНК патогенных боррелий / Н.И. Хаммадов, А.И. Хамидуллина // Проблемы особо опасных инфекций. – 2022. – №2. – С. 134-141.
5. Рудакова, С.А. Генотиповое разнообразие боррелий в иксодовых клещах на территории юга Западной Сибири / С.А. Рудакова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – №4. – С. 92-96.
6. Голидонова, К.А. Сравнительный анализ результатов исследования изолятов боррелий методами мультилокусного сиквенс-анализа (МЛСА) и типирования (MLST) / К.А. Голидонова, Э.И. Коренберг, Е.С. Крупинская // Национальные приоритеты России. – 2021. – №3. – С. 141-145.
7. Голидонова, К.А. Оптимизация мультилокусного сиквенс-анализа для лабораторной идентификации возбудителей иксодового клещевого боррелиоза / К.А. Голидонова, Э.И. Коренберг, А.Л. Гинцбург // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2022. – Том 99, №5. – С. 514-524.

УДК 57.085.23

### **БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ ОРГАНОВ AMOMUM TSAO-KO И AMOMUM LONGILIGULARE**

*Кхуат Ван Куэт, аспирант кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, [khuatquyetst@gmail.com](mailto:khuatquyetst@gmail.com)*