Микробиологическое подтверждение этиологии иксодового клещевого боррелиоза в безэритемной форме – инфекции, вызываемой *Borrelia miyamotoi*¹

А.Е. Платонов¹ (platonov@pcr.ru), J. Koetsveld², Н.М. Колясникова¹, Д.С. Сарксян^{3,1}, М.Г. Топоркова⁴, Г.А. Шипулин¹, J.W. Hovius²

¹ ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

² Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

³ ФГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России

⁴ ООО «Медицинское объединение «Новая больница», Екатеринбург

Резюме

Borrelia miyamotoi принадлежит к группе боррелий – возбудителей клещевых возвратных лихорадок. Эта спирохета передается теми же клещами, что и *Borrelia burgdorferi sensu lato*, и широко распространена в зонах умеренного климата Евразии и Северной Америки. Ранее нами методом ПЦР было показано, что заболевание с лихорадочным синдромом, диагностируемое обычно как «иксодовый клещевой боррелиоз в безэритемной форме», вызывается *B. miyamotoi*. По последним оценкам, в России число случаев инфекции, вызываемой *B. miyamotoi*, составляет несколько тысяч в год. Изучение этого «нового» патогена затрудняется тем, что до сих пор все попытки вырастить штаммы данной бактерии из крови человека были безуспешными.

Нами разработан и описывается в настоящем сообщении протокол, позволяющий избежать ингибирующего действия антикоагулянтов на рост *B. miyamotoi* и добиться выделения культуры *B. miyamotoi* из крови пациентов.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, *Borrelia miyamotoi*, культивирование, клинические изоляты

Microbiological Evidence of Etiology «Ixodes Tick-Borne Borreliosis without Erythema Migrans» – Infection Caused by *Borrelia miyamotoi*

A.E. Platonov¹ (platonov@pcr.ru), J. Koetsveld², N.M. Kolyasnikova¹, D.S. Sarkisyan^{3,1}, M.G. Toporkova^{4,1}, G.A. Shipulin¹, J.W. Hovius²

¹ Federal State Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» Federal service on customers' rights protection and human well-being surveillance, Moscow

² Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands

³ State Educational Institution of Higher Professional Training «Izhevsk State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

⁴ Ltd «Medical association «Novaya Bolnitsa», Yekaterinburg

Abstract

Background. The spirochete *Borrelia miyamotoi* belongs to the group of borrelia causing tick-borne relapsing fevers. It is transmitted by the same tick species as *Borrelia burgdorferi sensu lato* and is widespread in temperate climate zones of Eurasia and North America. Previously we have shown by PCR that clinical cases presented as systemic febrile illness and diagnosed usually as «Ixodes tick-borne borreliosis without erythema migrans» were caused by *B. miyamotoi*. According to recent estimation in Russia there are several thousands human cases of *B. miyamotoi* infection annually. The investigation of this emerging human pathogen was hampered because the attempts to culture this bacterium directly from human blood failed.

Results and conclusion: We here describe protocol - avoiding the inhibitory effects of anticoagulants on *B. miyamotoi* growth – enabling successful *B. miyamotoi* isolation from blood of Russian patients.

Keywords: ixodes tick-borne borrelioses, *Borrelia miyamotoi*, cultivation, clinical isolates

Введение

Иксодовый клещевой боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi* (ИКБ-БМ), – широко распространенное «новое» инфекционное заболевание человека, недавно открытое российскими учеными [1]. В отличие от боррелий *B. burgdorferi sensu lato* –

возбудителей «классической» болезни Лайма (БЛ), вид *B. miyamotoi*, хотя и передается теми же иксодовыми клещами, что и *B. burgdorferi*, генетически ближе к боррелиям – возбудителям клещевых возвратных лихорадок (КВЛ), распространенным в зонах тропического и субтропического климата [2, 3].

¹ Доложено на научно-практической конференции, посвященной 95-летию ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора: Актуальные проблемы эпидемиологии, микробиологии, природной очаговости болезней человека. Омск, 15 – 16 ноября 2016 г.

Вероятно поэтому ИКБ-БМ, проходящий в медицинской документации под названием «ИКБ в безэритемной форме», протекает как генерализованная инфекция с высокой лихорадкой, на пике которой концентрация спирохет в крови может достигать 10^7 /мл, в среднем составляя около 10^4 /мл. Клинические проявления ИКБ-БМ к настоящему моменту достаточно хорошо описаны [1, 4 – 8], но изучение его патогенеза сдерживалось отсутствием устойчивой культуры возбудителя *in vitro* и невозможностью высева *B. miyamotoi* из клинического материала от заболевших.

В течение 20 лет, прошедших с момента обнаружения *B. miyamotoi* в иксодовых клещах, во всем мире было изолировано от клещей и мышей всего 2 – 3 штамма, причем для поддержания культуры использовались достаточно сложные процедуры, например циклы заражения иммунодефицитных мышей SCID с последующим кормлением на них нимф иксодовых клещей, потомство которых использовалось вновь для заражения мышей и т.д. [9, 10]. Наконец в 2014 году двумя группами исследователей в Нидерландах и Германии было показано, что использование варианта среды «Modified Kelly-Pettenkorfer» (МКР) с добавлением сыворотки крови человека или телят позволяет за 1 – 2 недели вырастить культуру *B. miyamotoi* в достаточно больших концентрациях (2×10^7 /мл). При этом путем пересева на свежую среду удается поддерживать культуру в течение, как минимум, нескольких месяцев [11, 12].

В 2015 году мы предприняли попытку изоляции *B. miyamotoi* от больных ИКБ-БМ, у которых наличие *B. miyamotoi* в крови было подтверждено методом специфической ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РПВ). Хотя для посева плазмы крови больных использовали проверенную серию среды МКР (любезно предоставленную авторами разработки [11]), роста *B. miyamotoi* достичь не удалось.

Цель данной работы – выяснение причины неудачи изоляции *B. miyamotoi* из крови больных; оптимизация протокола изоляции и использование его для получения клинических изолятов *B. miyamotoi*.

Материалы и методы

Штаммы боррелий. В работе использованы два коллекционных штамма *B. miyamotoi* (НТ31 – евразийского и LB-2001 – североамериканского генотипов) и штамм возбудителя КВЛ *B. hermsii* HS1 [9, 10, 13], сохранявшиеся при 80 °С в глицеропептовом бульоне до этапа культивирования.

Культивирование и подсчет концентрации спирохет. Боррелии культивировались в 7 мл среды МКР с добавлением 10% сыворотки крови новорожденных телят (МКР-FS) при 33 °С в 9 мл пробирках, что позволяло создать необходимые микроаэрофильные условия [11]. После засева среды боррелиями в желаемой концентрации каждую

неделю в течение месяца отбирались аликвоты по 5 мкл. Оценку концентрации спирохет в каждой из них осуществляли методом темнопольной микроскопии с объективом 25X и окулярами 10X; просчитывали 6 полей зрения в живом препарате между предметным и покровным стеклом. Калибровка с помощью камеры для подсчета клеток показала, что предел детекции – одна спирохета на 6 полей зрения, соответствовал $4,2 \times 10^4$ спирохет в мл.

Культивирование в среде, содержащей антикоагулянты, проводилось аналогичным образом, только вместо оригинальной среды МКР-FS использовали МКР-FS с добавлением различных концентраций гепарина или ЭДТА, полученных путем заполнения пробирок BD Vacutainer средой МКР-FS и последующих серийных разведений полученного раствора.

Имитация инфицированной крови и ее использование для культивирования. Кровь здоровых доноров забирали в пробирки Vacutainer с гепарином (№ 367526), ЭДТА (№ 367525) или цитратом (№ 363083). Отсутствие у доноров антител к боррелиям подтверждали методом ИФА. В пробирку с кровью добавляли 100 мкл суспензии боррелий в МКР-FS в требуемой концентрации, сохраняли ее в течение часа при комнатной температуре и затем центрифугировали в различных режимах (см. Результаты). После подсчета количества спирохет в плазме, 1 мл плазмы или спирохет, отмытые от плазмы и ресуспендированные в 500 мкл МКР-FS, переносили в пробирку с МКР-FS до общего объема 7 мл. Культивирование проводилось в течение месяца, как описано выше.

Статистический анализ проведен с помощью лицензионной программы PASW Statistics 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Для попарного сравнения независимых количественных переменных использован непараметрический критерий Манна-Уитни, для сравнения нескольких независимых количественных переменных – критерий Крускала-Уоллеса.

Результаты и обсуждение

Выделение *B. miyamotoi* из крови – режимы центрифугирования. 1×10^7 спирохет *B. miyamotoi* (штамм НТ31) на мл были добавлены в образцы гепаринизированной крови от 3 здоровых доноров. После часа хранения при комнатной температуре образцы были подвергнуты центрифугированию в одном из 4 режимов: 1000 g/10 мин; 500 g/15 мин; 250 g/15 мин; 125 g/20 мин. В соответствующих 12 образцах плазмы было обнаружено от 24 до 70% спирохет, добавленных в кровь (рис. 1А). Режим 1000 g/10 мин обеспечивал несколько лучший выход ($60 \pm 12\%$), чем три остальных режима (в среднем $41 \pm 10\%$), $p = 0,032$, тест Манна-Уитни. Поэтому для дальнейших экспериментов был

использован режим 1000 g/10 мин, включенный также в оптимизированный протокол выделения.

Выделение *B. miyamotoi* из крови – распределение спирохет по объему плазмы. В аналогичном по дизайну эксперименте с кровью трех доноров было оценено количество спирохет в 4 последовательных слоях плазмы: от поверхности к осадку эритроцитов. В трех верхних слоях было обнаружено приблизительно одинаковое количество спирохет, в среднем $31 \pm 8\%$ от общего числа (рис. 1Б). Напротив, нижний слой, включая лейко-тромбослой, содержал только оставшиеся $9 \pm 5\%$ ($p = 0,009$). Поэтому в оптимизированном протоколе для изоляции *B. miyamotoi* рекомендуется использовать весь доступный объем плазмы без примеси эритроцитов и тромбоцитов.

Культивирование *B. miyamotoi*. Спирохеты штамма Н31 были непосредственно добавлены в среду МКР-FS в количестве 1000, или 100, или 10, или 1 на пробирку. Этот эксперимент, как и все далее описанные, проводился, как минимум, в трех повторах-трипликатах, то есть каждое отличающееся от других условие эксперимента (в данном случае – концентрация спирохет) было изучено, как минимум, трижды. Успешный рост спирохет наблюдался во всех пробирках, куда было добавлено 10 или более боррелий, и в 2 из 3, куда, по расче-

там, была добавлена одна боррелия (рис. 2). Скорость роста в логарифмической фазе не зависела от начальной концентрации: количество боррелий штамма Н31 удваивалось каждые 26 – 28 часов или, иными словами, увеличивалось в 65 – 85 раз за неделю. Логарифмический рост продолжался приблизительно до концентрации (K) 10^6 боррелий/мл ($Lg_{10} K = 6$); через 3 – 4 недели концентрация стабилизировалась на величине $Lg_{10} K = 7,0 \pm 0,33$ (здесь, как везде, приведено среднееарифметическое значение $\pm$ стандартное отклонение); затем культура нуждалась в пересеве на свежую среду.

Культивирование *B. miyamotoi* из образцов крови или в среде с антикоагулянтами. Спирохеты штамма Н31 были добавлены в серийных десятикратных разведениях от 1×10^5 до 100 в мл крови в образцы крови 3 доноров, взятые в пробирки с гепарином, или ЭДТА, или цитратом. После выделения по оптимизированному протоколу 1 мл плазмы был добавлен к 6 мл МКР-FS. Во всех вариантах (различные доноры, или различные концентрации спирохет, или различные антикоагулянты) рост полностью отсутствовал в течение месяца наблюдения. Для оценки эффекта антикоагулянтов гепарин (в серийных разведениях от 5 международных единиц (МЕ) на мл до 0,25 МЕ/мл) или ЭДТА (в разведениях от 500 мкг/мл до 25 мкг/мл) были добавлены к среде МКР-FS, куда затем внес-

Рисунок 1.

Сравнение различных режимов центрифугирования для выделения *B. miyamotoi* из крови

Примечание: А. Эффект скорости центрифугирования. В пробирки с гепаринизированной кровью добавляли 10^7 боррелий *B. miyamotoi* (штамм НТ31) на мл крови; пробирки хранили при комнатной температуре в течение одного часа и затем центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин, или при 500 g 15 мин, или при 250 g 15 мин, или при 125 g в течение 20 мин. Боррелии визуализировали и подсчитывали с помощью темнопольной микроскопии. По оси ординат показана доля боррелий в плазме по отношению к общему количеству боррелий, добавленному в кровь. Каждая точка соответствует индивидуальному результату, полученному с образцами крови одного из 3 доноров: I (белый), II (черный), III (серый).
Б. Количество *B. miyamotoi* в различных слоях плазмы после центрифугирования. В пробирки с гепаринизированной кровью добавляли 10^7 боррелий *B. miyamotoi* (штамм НТ31) на мл крови; пробирки хранили при комнатной температуре в течение одного часа и затем центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин. Каждый из четырех слоев плазмы, изображенных на правой панели рис. 1, В, отбирали в отдельную пробирку. Боррелии визуализировали и подсчитывали с помощью темнопольной микроскопии. По оси ординат показана доля боррелий в том или ином слое по отношению к общему количеству боррелий в 4 слоях. Каждая точка соответствует индивидуальному результату, полученному с образцами крови одного из 3 доноров: I (белый), II (черный), III (серый).

Рисунок 2.
Культивирование *B. miyamotoi*

Примечание: Из культуры *B. miyamotoi* (штамм HT31) предыдущего пассажа приготавливали серийные разведения в среде MKP-FS. Затем в пробирки для культивирования со свежей средой MKP-FS (7 мл) было внесено 1, 10, 100 или 1000 боррелий *B. miyamotoi*. Рост боррелий в культуре контролировали с помощью темнопольной микроскопии еженедельно в течение четырех недель; горизонтальная штриховая линия соответствует минимальной определяемой концентрации боррелий в образце. Показаны индивидуальные точки, соответствующие 3 экспериментам по внесению 1, 10 или 100 боррелий и 6 экспериментам по внесению 1000 боррелий, а также линии интерполяции. По оси ординат шкала логарифмическая, то есть приблизительно до 14 дня культивирования наблюдается логарифмический рост.

ли 1×10^3 боррелий HT31. Гепарин в дозах от 1 МЕ/мл и выше, ЭДТА в дозах 250 мкг/мл и выше полностью ингибировали рост *B. miyamotoi*. Меньшие дозы (0,5 МЕ/мл гепарина и 100 мкг/мл ЭДТА) существенно замедляли и/или подавляли рост (рис. 3). Поскольку стандартные пробирки для взятия образцов крови содержат 17 МЕ гепарина или 1800 мкг ЭДТА на мл крови, очевидно, что непосредственно использовать плазму крови больных для изоляции *B. miyamotoi* методически неправильно, что и объясняет неуспех попыток выделения *B. miyamotoi* в 2015 году.

Оптимизированный протокол культивирования *B. miyamotoi* из образцов крови. Для отмывки от антикоагулянтов была введена дополнительная стадия – центрифугирование плазмы 10 мин при 8000 g. Супернатант удаляли, осадок спирохет ресуспендировали в 500 мкл MKP-FS и переносили в 6,5 мл MKP-FS для культивирования. В этом варианте успешный рост наблюдался при изоляции из крови трех доноров, куда были внесены 10000, или 1000, или 100 спирохет HT31 на мл, а также из образцов от 2 из 3 доноров, куда были внесены 10 или одна спирохета HT31 на мл кро-

ви. Время удвоения культуры варьировало от 24 до 32 часов; через 3 – 4 недели концентрация стабилизировалась на уровне $Lg_{10}K = 6,8 \pm 0,50$ спирохет/мл (рис. 4), то есть характеристики роста не отличались значимо от таковых при росте культуры *B. miyamotoi* непосредственно из предыдущего пассажа без этапа проведения через кровь донора. Введение дополнительной отмывки боррелий также элиминировало эффект ЭДТА (данные не приводятся).

Полученные результаты были также полностью качественно воспроизведены при изучении культивирования *B. miyamotoi* штамма LB-2001 и *B. hermsii* штамма HS1 (данные не приводятся). Единственное количественное отличие – при использовании оптимизированного двустадийного протокола выделения из крови *B. hermsii* штамма HS1 данная спирохета растет быстрее и успешнее, чем *B. miyamotoi* штаммов HT31 или LB-2001. Время удвоения культуры *B. hermsii* составляет всего 13 часов, концентрация выходит на плато на уровне $Lg_{10}K = 7,4 \pm 0,1$ спирохет/мл.

Культивирование *B. miyamotoi* из крови больных ИКБ-БМ. Исследование проводили в июне –

Рисунок 3.
Влияние антикоагулянтов на рост культуры *B. miyamotoi*

Примечание: Серийные разведения гепарина (от 0.25 МЕ/мл до 5 МЕ/мл) и ЭДТА (от 25 мкг/мл до 500 мкг/мл) готовили в пробирках для культивирования со средой МКР-FS, каждое разведение в трех повторах. В каждую пробирку было внесено по 1000 боррелий *B. miyamotoi* (штамм HT31); рост или отсутствие роста боррелий в культуре контролировали с помощью темнопольной микроскопии в течение четырех недель. Показаны концентрации боррелий, достигнутые через 14 и 28 дней культивирования.

Рисунок 4.
Успешный рост культуры *B. miyamotoi* после выделения боррелий из крови человека по двустадийной методике

Примечание: В пробирки с 4 мл гепаринизированной крови здоровых доноров были внесены *B. miyamotoi* (штамм HT31) в концентрации 1, 10, 100, 1000 или 10000 боррелий на мл крови. После выделения по двустадийной методике выделенные боррелии были перенесены в пробирки для культивирования со свежей средой МКР-FS (7 мл). Рост боррелий в культуре контролировали с помощью темнопольной микроскопии еженедельно в течение четырех недель; горизонтальная штриховая линия соответствует минимальной определяемой концентрации боррелий в образце. Показаны индивидуальные точки, соответствующие экспериментам с кровью трех доноров, и линии интерполяции. По оси ординат шкала логарифмическая, то есть приблизительно до 14 дня культивирования наблюдается логарифмический рост.

июле 2016 года на базе профильных отделений Республиканской клинической инфекционной больницы г. Ижевска и Медицинского объединения «Новая больница» в г. Екатеринбурге. Детали клинико-лабораторной дифференциальной диагностики ИКБ-БМ описаны нами ранее [1, 4, 5]. Кровь больных ИКБ-БМ забирали в пробирки Vacutainer с гепарином (№ 367869) в первые сутки после поступления больного в стационар, до начала антибиотикотерапии, как правило, на пике лихорадки. Для выделения и роста *B. miyamotoi* использовали оптимизированный двустадийный протокол и среду МКР-FS. Пробирки культивировали до перехода получаемой культуры из логарифмической в стационарную фазу роста или, при отсутствии роста, в течение месяца. Рост культуры *B. miyamotoi* подтверждали методом видоспецифичной ПЦР-РРВ, а также путем наблюдения жизнеспособных подвижных спирохет и их подсчета методом темнопольной микроскопии. В г. Ижевске из сывороток от 4 больных с подтвержденным ПЦР-РРВ диагнозом ИКБ-БМ удалось высеять, вырастить и сохранить 4 клинических штамма *B. miyamotoi*, в Екатеринбурге из сывороток от 5 больных ИКБ-БМ получены 2 штамма. Следует отметить, что «окно» для культивирования *B. miyamotoi* из крови больных достаточно узкое: поздняя, не на пике лихорадки, госпитализация

больного или взятие образцов крови после начала терапии пока являются препятствием для получения жизнеспособных культур *B. miyamotoi*.

Выводы

1. Разработанный нами протокол позволил впервые выделить ряд штаммов *B. miyamotoi* из крови больных с клиническим диагнозом «ИКБ в безэритемной форме», то есть окончательно подтвердить, что *B. miyamotoi* является возбудителем этого достаточно распространенного в России инфекционного заболевания.
2. Предполагаем, что этот же протокол может быть успешно использован также для изоляции *B. miyamotoi* западноевропейского и североамериканского геновариантов.
3. Наличие в руках исследователей штаммов *B. miyamotoi* с различными антигенными и генетическими характеристиками позволит углубить и интенсифицировать изучение патогенеза «новой» инфекции, вызываемой *Borrelia miyamotoi*, в том числе прояснить роль врожденного и приобретенного иммунитета в защите от этой инфекции.

Исследования российских соавторов выполнены за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-15-00072).

Литература

1. Platonov A.E., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A., Toporkova M.G., Maleev V.V., et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17 (10): 1816 – 1823.
2. Платонов А.Е., Малеев В.В., Карань Л.С. Боррелиозные возвратные лихорадки: забытые и новые. Терапевтический архив. 2010; 82(11): 74 – 80.
3. Wagemakers A., Staarink P.J., Sprong H., Hovius J.W. *Borrelia miyamotoi*: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete. Trends Parasitol. 2015; 31 (6): 260 – 269.
4. Сарксян Д.С., Платонов А.Е., Карань Л.С., Малинин И.Е., Халитова Л.И., Шахов В.И., и др. Клинические особенности «нового» клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi*. Терапевтический архив. 2012; 84 (11): 34 – 41.
5. Платонов А.Е., Сарксян Д.С., Малеев В.В. Применение метода «дерева решений» для построения алгоритма дифференциальной диагностики природно-очаговых инфекций. Терапевтический архив. 2013; 85 (11): 21 – 26.
6. Платонов А.Е., Сарксян Д.С., Карань Л.С., Шипулин Г.А., Гордыгина Е.В. и др. Состояние системы свертывания крови и микроциркуляторные нарушения при иксодовом клещевом боррелиозе, вызванном *Borrelia miyamotoi*. Терапевтический архив. 2015; 87 (11): 26 – 32.
7. Сарксян Д.С., Малеев В.В., Платонов А.Е., Платонова О.В., Карань Л.С. Рецидивирующее (возвратное) течение заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi*. Терапевтический архив. 2015; 87 (11): 18 – 25.
8. Molloy P.J., Telford S.R., Chowdhri H.R., Lepore T.J., Gugliotta J.L., Weeks K.E. et al. *Borrelia miyamotoi* disease in the northeastern United States: a case series. Ann. Intern. Med. 2015; 163 (2): 91 – 98.
9. Fukunaga M., Okada K., Nakao M., Konishi T., Sato Y. Phylogenetic analysis of *Borrelia* species based on flagellin gene sequences and its application for molecular typing of Lyme disease borreliae. Int. J. Syst. Bacteriol. 1996; 46(4): 898 – 905.
10. Scoles G.A., Papero M., Beati L., Fish D. A relapsing fever group spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks. Vector Borne Zoonotic Dis. 2001; 1(1): 21 – 34.
11. Wagemakers A., Oei A., Fikrig M.M., Mielle W.R., Hovius J.W. The relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* is cultivable in a modified Kelly-Pettenkofer medium, and is resistant to human complement. Parasit. Vectors. 2014; 7: 418.
12. Margos G., Stockmeier S., Hizo-Teufel C., Hepner S., Fish D., Dautel H., et al. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. Ticks Tick Borne Dis. 2015; 6(2): 181 – 184.
13. Barbour A.G., Tessier S.L., Stoenner H.G. Variable major proteins of *Borrellia hermsii*. J. Exp. Med. 1982; 156(5): 1312 – 1324.

References

1. Platonov A.E., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A., Toporkova M.G., Maleev V.V., et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17 (10): 1816 – 1823.
2. Platonov A.E., Maleev V.V., Karan L.S. Relapsing borrelioses fevers: forgotten and new ones. Terapevtichesky Arkhiv. [Therapeutic archives]. 2010; 82 (11): 74 – 80 (In Russian).
3. Wagemakers A., Staarink P.J., Sprong H., Hovius J.W. *Borrelia miyamotoi*: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete. Trends Parasitol. 2015; 31 (6): 260 – 269.
4. Sarksyian D.S., Platonov A.E., Karan L.S., Malinin I.E., Khalitova L.I., Shakhov V.I., et al. Clinical presentation of «new» tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*. Terapevtichesky Arkhiv. [Therapeutic archives]. 2012; 84(11): 34 – 41 (In Russian).
5. Platonov A.E., Sarksyian D.S., Maleev V.V. The application of decision trees for constructing an algorithm for the differential diagnosis of zoonotic infections. Terapevtichesky Arkhiv. [Therapeutic archives]. 2013; 85 (11): 21 – 26 (In Russian).
6. Platonov A.E., Sarksyian D.S., Karan L.S., Shipulin G.A., Gordyagina E.V., Malinin O.V., et al. The blood coagulation system and microcirculatory disorders in ixodid tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*. Terapevtichesky Arkhiv. [Therapeutic archives]. 2015; 87(11): 26 – 32 (In Russian).

7. Sarkisyan D.S., Maleev V.V., Platonov A.E., Platonova O.V., Karan L.S. Relapsing (recurrent) disease caused by *Borrelia miyamotoi*. *Terapevtichesky Arkhiv*. [Therapeutic archives]. 2015; 87(11): 18 – 25 (In Russian).
8. Molloy P.J., Telford S.R., Chowdri H.R., Lepore T.J., Gugliotta J.L., Weeks K.E., et al. *Borrelia miyamotoi* disease in the northeastern United States: a case series. *Ann. Intern. Med.* 2015; 163 (2): 91 – 98.
9. Fukunaga M., Okada K., Nakao M., Konishi T., Sato Y. Phylogenetic analysis of *Borrelia* species based on flagellin gene sequences and its application for molecular typing of Lyme disease borreliæ. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1996; 46 (4): 898 – 905.
10. Scoles G.A., Papero M., Beati L., Fish D. A relapsing fever group spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2001; 1 (1): 21 – 34.
11. Wagemakers A., Oei A., Fikrig M.M., Mielliet W.R., Hovius J.W. The relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* is cultivable in a modified Kelly-Pettenkofer medium, and is resistant to human complement. *Parasit. Vectors.* 2014; 7: 418.
12. Margos G., Stockmeier S., Hizo-Teufel C., Hepner S., Fish D., Dautel H., et al. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6 (2): 181 – 184.
13. Barbour A.G., Tessier S.L., Stoenner H.G. Variable major proteins of *Borrellia hermsii*. *J. Exp. Med.* 1982; 156 (5): 1312 – 1324.

КОРОТКОЙ СТРОКОЙ

Вакцинация матерей: этическая проблема

Вакцинация в период беременности способна защитить женщину, плод и новорожденного ребенка от инфекционных заболеваний, что особенно актуально для развивающихся стран. Тем не менее, иммунизация беременных женщин вызывает немало этических вопросов.

Профессор Марсель Вервей (Marcel Verweij) из Нидерландского Вагенингенского университета (Section Communication, Philosophy, and Technology, Department of Social Sciences, Wageningen University, Netherlands) впервые выполнил систематический анализ этических вопросов вакцинации беременных женщин. Он пришел к выводу, что проводить вакцинацию во время беременности целесообразно с этической точки зрения, если она позволяет защитить мать или ребенка от конкретного риска развития опасной инфекции.

Вакцинация беременных женщин против столбняка уже является частью традиционной схемы антенатальной медицинской помощи во многих странах, играя важную роль в снижении заболеваемости столбняком матери и новорожденного ребенка. Дополнительно рекомендованы прививки против гриппа и коклюша. Если станет доступна безопасная и эффективная вакцина против вируса Зика, иммунизация беременных женщин позволит защитить плод от развития микроцефалии и других нарушений, связанных с воздействием этого вируса.

Тем не менее, вакцинация во время беременности остается спорным вопросом, поскольку и медицинские специалисты, и общественность часто выступают против какого-либо фармакологического вмешательства в этот период.

Нежелание использовать медицинские препараты и вакцины во время беременности усилива-

ется неопределенностью относительно возможного риска, особенно для развивающегося плода.

Беременность входит в число критериев для не включения в клинические испытания и, следовательно, сведения о безопасности иммунизации достаточно ограничены. При этом некоторые вакцины (против столбняка, коклюша или гриппа) регулярно используются для иммунизации беременных женщин, несмотря на отсутствие доказательств повышенного риска развития побочных эффектов у новорожденных детей.

«Строгое толкование так называемого принципа предосторожности, то есть, «необходимость воздерживаться от вакцинации, если существует неопределенность в отношении безопасности», подвергает беременную женщину и плод риску заражения, — считает Марсель Вервей, выполнивший систематический обзор по просьбе ВОЗ. — Разумный принцип предосторожности заключается в том, чтобы определить конкретные условия, когда возможна вакцинация во время беременности. В частности, установить, что прививка необходима только в случае конкретных, серьезных рисков развития инфекционного заболевания».

Также ученые полагают, что вакцинация беременных должна стать частью антенатальной медицинской помощи, которую следует развивать прежде всего в тех регионах, где дородовое наблюдение еще недостаточно распространено. Кроме того, учитывая опасения беременных женщин по поводу безопасности вакцинации, важен диалог с медицинскими работниками, которые должны разъяснять риски и преимущества.

Источник: [http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(16\)30349-8/](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(16)30349-8/)