

УДК: 616.9-002.954:595.421Ixodidae(571.620)

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ РАЗНЫХ ВИДОВ КАК ПРИЗНАК ПОЛИВЕКТОРНОСТИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ТЕРРИТОРИИ ХАБАРОВСКОГО КРАЯ

А.П. Романова, Т.В. Мжельская, А.Г. Драгомерецкая, О.Е. Троценко
ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
г. Хабаровск, Российская Федерация

В статье изложены результаты изучения инфицированности напивавшихся иксодовых клещей разных видов возбудителями клещевых трансмиссивных инфекций. Проанализирована динамика выявления возбудителей в течение сезона активности клещей на территории Хабаровского края в 2017-2018 гг. Подтверждена поливекторность природных очагов инфекций, наиболее эпидемически значимых для Хабаровского края. Вопрос сочетанного инфицирования иксодовых клещей разных видов представляет большой интерес и требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: клещевые трансмиссивные инфекции, иксодовые клещи, инфицированность переносчиков, поливекторность очагов, Хабаровский край

INFECTION RATE OF DIFFERENT SPECIES OF IXODIC TICKS AS AN INDICATOR OF COMBINED NATURAL FOCI OF ARTHROPOD-BORNE DISEASES IN THE TERRITORY OF THE KHABAROVSK REGION

A.P. Romanova, T.V. Mzhelskaya, A.G. Dragomeretskaya, O.E. Trotsenko
FBIS Khabarovsk scientific research institute of epidemiology and microbiology of the Federal Service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Khabarovsk, Russian Federation

Current article presents results of the study designed to evaluate the infection rate of congested ticks with different tick-borne diseases. Dynamics of infectious agents detection during the ticks seasonal activity in the territory of the Khabarovsk region in 2017-2018 was analyzed. The presence of combined natural foci of the most significant and epidemically relevant infections in the Khabarovsk region was determined. The issue of combined infestation of different species of Ixodic ticks is of high interest and demands further investigation.

Key words: tick-borne diseases, Ixodic ticks, carrier incidence, combined natural foci, Khabarovsk region

Введение

Клещевые трансмиссивные инфекции (КТИ) имеют широкое распространение в мире и отличаются большим этиологическим разнообразием (вирусы, бактерии, риккетсии, простейшие) [3]. Рост заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) и клещевым риккетсиозом (КР) привлекает в настоящее время пристальное внимание медицинской общественности [2, 9]. Перечисленные инфекции являются наиболее значимыми и для территории Хабаровского края, заболеваемость которыми регистрируется в 14 муниципальных районах, 2-х городских округах, 29 городских и 188 сельских поселениях.

Помимо наиболее распространенных возбудителей КТИ, на территории края отмечена циркуляция возбудителей гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ), моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) и ИКБ, вызываемого *B. miyamotoi* (ИКБ-БМ). Свидетельством активной циркуляции возбудителя ИКБ-БМ стало обнаружение его генетических маркеров в напивавшихся и голодных клещах в совокупности с выделением ДНК этого вида боррелий из клинического материала, полученного от пострадавших от присасывания клеща людей [6, 8, 12].

Мониторинг эпизоотологической ситуации в природных очагах КТИ – один из важнейших элементов эпидемиологического надзора за данной группой инфекций. Важный раздел оценки эпизоото-

логической ситуации включает характеристику видового состава, численности и инфицированности переносчиков.

Из 11 видов иксодовых клещей, обитающих на территории Хабаровского края, основным переносчиком вирусных и бактериальных патогенов является *Ixodes persulcatus*. Вид заселяет все растительные группировки, наиболее массово хвойные и хвойно-широколиственные леса. Многочисленная фауна прокормителей клещей (грызуны, птицы, средние и крупные млекопитающие) способствует поддержанию их высокой численности. Эпидемически менее значимы клещи *Dermacentor silvarum* и *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica*, которые проявляют меньшую агрессивность по отношению к человеку [1, 7, 11].

Иксодовые клещи активны, как правило, с апреля по октябрь. Их численность зависит от конкретных метеорологических условий в течение года, глубины снежного покрова в период, предшествующий эпидемическому сезону.

Следует подчеркнуть, что возбудители КТИ в природных очагах населяют разные среды обитания: векторную (в организме переносчиков – клещей) и гостальную (в теплокровных животных – резервуарных хозяевах). По числу видов переносчиков характеризуется понятие векторности природного очага (очаги могут быть моно- и поливекторными) [5].

Идентичность паразитарных систем (виды переносчиков, резервуарные хозяева) обуславливают сочетанность очагов природно-очаговых инфекций (ПОИ) на территории Хабаровского края.

В связи с этим, актуальным является продолжение изучения инфицированности иксодовых клещей для определения основных переносчиков (векторов) возбудителей КТИ, планирования профилактических мероприятий и акцентирования внимания медицинских работников на возможных случаях возникновения микст-инфекций у лихорадящих больных в эпидемический сезон активности клещей.

Цель исследования

Изучение инфицированности иксодовых клещей возбудителями КТИ для подтверждения поливекторности очагов заболеваний на территории Хабаровского края.

Материалы и методы исследования

В эпидемический сезон 2017-2018 гг. с целью мониторинга инфицированности переносчиков исследовано 4934 экз. иксодовых клещей, снятых с людей, на наличие антигена вируса клещевого энцефалита (КЭ) и 1238 – на наличие генетического материала *B. burgdorferi s.l.*, *B. miyamotoi*, *R. sibirica* / *R. heilongjiangensis*, *A. phagocytophilum*, *E. muris*/*E. chaffeensis*.

Гомогенизацию клещей проводили в гомогенизаторах Speedmill Plus (Германия). Выявление антигена вируса КЭ осуществляли с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа «ВектоВКЭ-антиген» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), согласно инструкциям производителя.

Выявление генетического материала возбудителей проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Суммарную нуклеиновую кислоту (НК) из 100 мкл суспензии клещей выделяли с использованием наборов серии «РеалБест экстракция 100» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Выявление НК возбудителей КТИ в анализируемых пробах проводили с помощью наборов реагентов «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*», «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi s.l.*», «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica/Rickettsia heilongjiangensis*», «РеалБест ДНК *Anaplasma phagocytophilum/Ehrlichia muris, Ehrlichia chaffeensis*» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), согласно инструкциям производителя.

Постановку ПЦР проводили на термоциклерах с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «iQ5 iCycler» и «CFX 96» («Bio-Rad», США). Для исследований использовали по 100 мкл фракции суммарной НК, выделенной из напивавшихся клещей.

Анализировали результаты с помощью программы Excel.

Результаты и обсуждение

В результате исследований антиген вируса КЭ в напивавшихся клещах, доставленных жителями Хабаровского края в 2017 и 2018 гг., был выявлен в 1,1±0,22% и 1,3±0,22% случаев, соответственно (табл. 1).

Таблица 1.

Выявление антигена ВКЭ в иксодовых клещах в эпидемический сезон 2017-2018 гг.

Период	2017 год			2018 год		
	Исследовано, экз.	Выявлен антиген ВКЭ		Исследовано, экз.	Выявлен антиген ВКЭ	
		Абс.	$P \pm m_p, \%$		Абс.	$P \pm m_p, \%$
01.05. - 31.05	1018	14	1,4 $\pm$ 0,37	1178	21	1,8 $\pm$ 0,39
01.06. - 30.06	880	8	0,9 $\pm$ 0,32	966	9	0,9 $\pm$ 0,30
01.07. - 31.07	202	1	0,5 $\pm$ 0,50	429	4	0,9 $\pm$ 0,46
01.08. - 31.08	48	1	2,1 $\pm$ 2,07	59	0	0
01.09. - 30.09	70	1	1,4 $\pm$ 1,40	47	1	2,1 $\pm$ 2,09
01.10. - 31.10	11	0	0	26	1	3,8 $\pm$ 3,75
Всего	2229	25	1,1 $\pm$ 0,22	2705	36	1,3 $\pm$ 0,22

Примечание: Абс. – абсолютное число

Статистически значимых различий выявляемости антигена вируса КЭ в различные периоды эпидемического сезона не выявлено. Антигенположительные клещи были доставлены на исследование из г. Хабаровска, Хабаровского, имени Лазо, Комсомольского, Амурского, Вяземского районов.

Результаты исследования разных видов иксодовых клещей на наличие генетического материала возбудителей ИКБ представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Инфицированность возбудителями ИКБ напивавшихся клещей разных видов в 2017-2018 гг. (суммарно)

Вид клеща	Результат исследования					
	Исследовано, экз.	Выявлена ДНК <i>Borrelia b.s.l.</i>	$P \pm m_p, \%$	Исследовано, экз.	Выявлена ДНК <i>B. miyamotoi</i>	$P \pm m_p, \%$
<i>Ixodes persulcatus</i>	710	223	31,4 $\pm$ 1,74	332	26	7,8 $\pm$ 1,47
<i>Dermacentor silvarum</i>	47	6	12,8 $\pm$ 4,87	35	3	8,6 $\pm$ 4,74
<i>Haemaphysalis spp.</i>	169	28	16,6 $\pm$ 2,86	115	6	5,2 $\pm$ 2,07
Без уточнения вида	312	81	26,0 $\pm$ 2,48	285	13	4,6 $\pm$ 1,24
Всего	1238	338	28,8$\pm$1,32	767	48	6,3$\pm$0,88

Показатели инфицированности *B. burgdorferi s.l.* были достоверно выше у клещей *I. persulcatus* в сравнении с таковыми у *D. silvarum* ($p < 0,01$) и *Haemaphysalis spp.* ($p < 0,05$). Различия уровня инфицированности *B. miyamotoi* клещей разных видов оказались статистически незначимыми.

Динамика зараженности иксодовых клещей боррелиями в течение эпидемического сезона 2017-2018 годов представлена на рисунке 1.

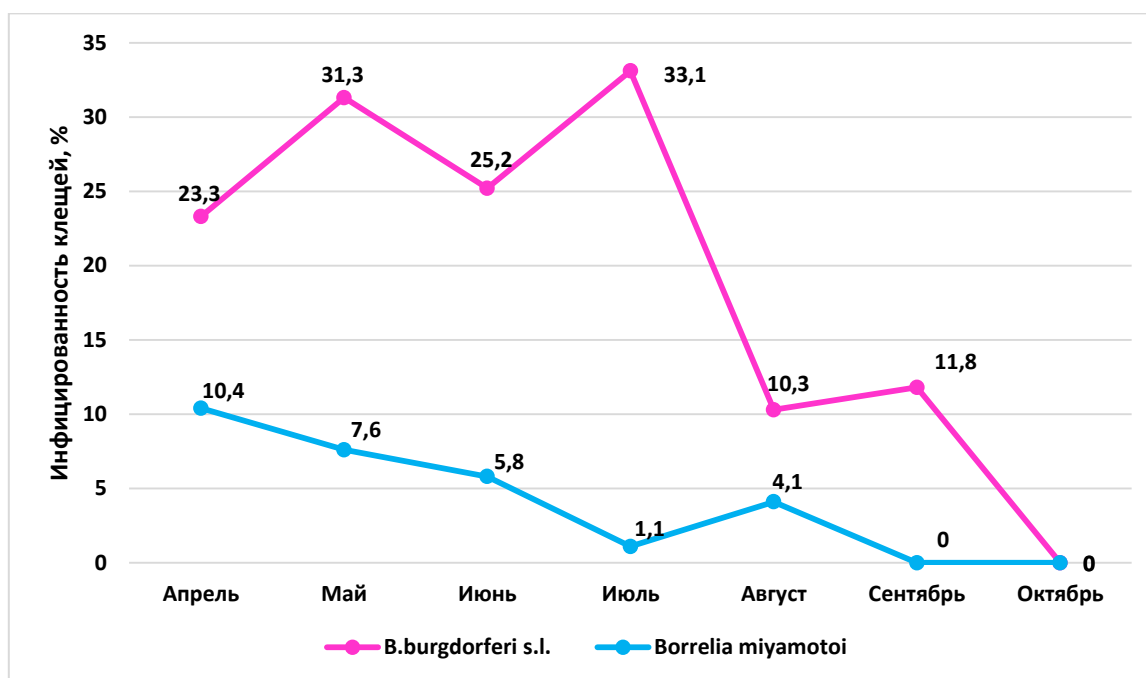


Рис. 1. Инфицированность *Borrelia burgdorferi s.l.* и *Borrelia miyamotoi* иксодовых клещей с апреля по сентябрь 2017-2018 гг.

В период с апреля по июль была отмечена тенденция роста показателя инфицированности клещей *B. burgdorferi s.l.* Пиковый показатель инфицированности – $33,1 \pm 4,33\%$ пришёлся на июль ($p < 0,05$), далее следовало снижение уровня зараженности до $11,8 \pm 5,53\%$ ($p < 0,05$) в сентябре и до нулевых значений в октябре.

В период наблюдения с апреля по август была отмечена тенденция снижения уровня инфицированности *B. miyamotoi* иксодовых клещей, удаленных после присасывания к человеку ($p < 0,05$).

Важно отметить, что в 13 из 48 случаев было выявлено сочетанное инфицирование клещей *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s.l.* При этом, значения Ct (порогового цикла реакции) ДНК *B. burgdorferi s.l.* в большинстве случаев значительно превышали Ct ДНК *B. miyamotoi*, что свидетельствовало о более высоких концентрациях ДНК *B. burgdorferi s.l.* в исследуемом материале, и, следовательно, о более высоком по сравнению с *B. miyamotoi* уровне инфицирования клеща этим возбудителем.

При изучении зараженности клещей возбудителями ГАЧ и МЭЧ, ДНК *A. phagocytophilum* была обнаружена в 14 из 301 экз. иксодовых клещей ($4,7 \pm 1,22\%$). ДНК возбудителей МЭЧ – в 4 из 301 экз., что составило $1,3 \pm 0,65\%$ (табл. 3).

Таблица 3.

Инфицированность возбудителями ГАЧ и МЭЧ напивавшихся клещей разных видов в 2017-2018 гг.

Вид клеща	Результат исследования					
	Исследовано, экз.	Выявлена ДНК <i>A. phagocytophilum</i>	$P \pm m_p, \%$	Исследовано, экз.	Выявлена ДНК <i>E. muris/E. chaffeensis</i>	$P \pm m_p, \%$
<i>I. persulcatus</i>	170	9	$5,3 \pm 1,72$	170	4	$2,4 \pm 1,17$
<i>D. silvarum</i>	10	0	0	10	0	0
<i>Haemaphysalis spp.</i>	58	2	$3,4 \pm 2,38$	58	0	0
Без уточнения вида	63	3	$4,8 \pm 2,69$	63	0	0
Всего	301	14	$4,7 \pm 1,22$	301	4	$1,3 \pm 0,65$

При этом, в 2017 году частота выявления ДНК *A. phagocytophilum* и ДНК *E.muris/E.chaffeensis* была одинаковой – по $2,5 \pm 1,43\%$. В 2018 году ДНК *A. phagocytophilum* выявлена в 11 пробах ($6,0 \pm 1,76\%$), а ДНК *E.muris*, *E.chaffeensis* – лишь в 1 пробе ($0,5 \pm 0,52\%$).

В 2017-2018 гг. первые клещи, инфицированные *A. phagocytophilum*, были доставлены на исследование в июне. Суммарная заражённость клещей данным возбудителем (за 2 года) в этом месяце составила $8,4 \pm 2,54\%$. В июле-августе показатели зараженности не имели достоверных различий. В клещах, доставленных на исследование в сентябре-октябре, ДНК возбудителя не была обнаружена.

За два года наблюдения было выявлено только 4 экз. клещей ($2,4 \pm 1,17\%$) *I.persulcatus*, содержащих ДНК *E.muris/E.chaffeensis*. В клещах других видов генетический материал этих возбудителей обнаружен не был.

В целом, заражённость переносчиков возбудителем ГАЧ оказалась в 3,6 раза выше, чем возбудителями МЭЧ – соответственно $4,7 \pm 1,22\%$ и $1,3 \pm 0,65\%$ ($p < 0,05$).

На наличие генетического материала возбудителей клещевого риккетсиоза (*R.sibirica* и *R.heilongjiangensis*) было исследовано 499 экз. иксодовых клещей, удаленных после присасывания к человеку. ДНК *R.sibirica* не была выявлена ни в одной пробе. ДНК *R.heilongjiangensis* была обнаружена в $16,0 \pm 1,64\%$ проб. Следует отметить, что клещи *Haemaphysalis concinna*, как основной вектор данного патогена, ранее были описаны рядом исследователей [10, 13, 14]. Однако в результате настоящего исследования статистически значимых различий показателей инфицированности *R.heilongjiangensis* клещей рода *Haemaphysalis*, *I.persulcatus* и *D.silvarum* выявлено не было. В связи с этим, необходимы дальнейшие углубленные исследования очагов заболевания, вызываемого данным возбудителем, на территории Хабаровского края.

Динамика показателей инфицированности клещей *R.heilongjiangensis* представлена на рисунке 2.

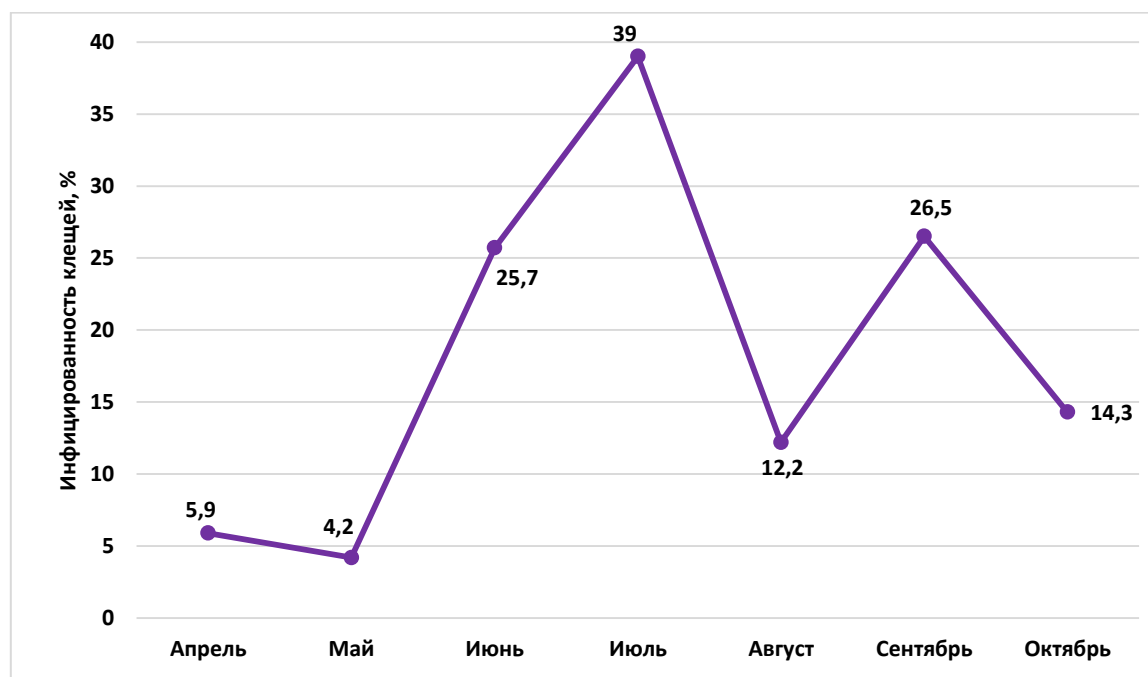


Рис. 2. Инфицированность *R.heilongjiangensis* иксодовых клещей в период с апреля по октябрь 2017-2018 гг.

Максимальные показатели зараженности клещей *R. heilongjiangensis* были зафиксированы в июле и составили $39,0 \pm 6,35\%$. К концу эпидемического сезона (октябрь) инфицированность клещей снизилась до $14,0\%$ (ДНК возбудителя была выявлена в 1 из 7 исследованных клещей).

Важно отметить, что отдельная регистрация клещевых риккетсиозов, вызываемых *R.sibirica* и *R.heilongjiangensis*, в Хабаровском крае не проводится ввиду технической сложности лабораторной диагностики (необходимо исследование биологического материала от заболевших с использованием молекулярно-генетических методов). Диагноз в большинстве случаев устанавливается клинико-эпидемиологически. Поэтому все случаи клещевого риккетсиоза в Хабаровском крае регистрируются как сибирский клещевой тиф (СКТ), и определить соотношение числа заболевших вследствие инфицирования тем или иным патогеном в настоящее время не представляется возможным. Однако отсутствие среди исследованных в 2017-2018 гг. иксодовых клещей особей, инфицированных *R.sibirica*, позволяет с определенной долей вероятности предположить, что, если не во всех, то в подавляющем большинстве случаев, заболевание было вызвано именно *R.heilongjiangensis*.

Ситуация по инфекциям, возникающим после присасывания клещей в период их активности, изменяется в стране в связи с выявлением «новых» возбудителей, циркулирующих в естественных экосистемах. Нередки случаи одновременного инфицирования клещей несколькими патогенами, что может быть причиной возникновения микст-инфекций у пострадавших от присасывания клеща людей. Доказано, что существование в одном клеще возбудителей вирусной и бактериальной этиологии не вызывает взаимного отрицательного влияния возбудителей, которые находятся в состоянии симбиоза [4].

В результате исследований, проведенных 2017-2018 гг., микст-инфицирование было выявлено у всех видов исследованных клещей (табл. 4).

Таблица 4.

**Наличие (+) либо отсутствие (-) инфицированности возбудителями КТИ
иксодовых клещей разных видов в период наблюдения 2017-2018 гг.**

№ пп	Маркер	Вид клеща		
		<i>Ixodes persulcatus</i>	<i>Dermacentor silvarum</i>	<i>Haemaphysalis spp.</i>
Моно-инфицирование				
1.	Антиген ВКЭ	+	+	+
2.	ДНК <i>Borrelia burgdorferi s.l.</i>	+	+	+
3.	ДНК <i>B.miyamotoi</i>	+	+	+
4.	ДНК <i>A.phagocytophilum</i>	+	-	+
5.	ДНК <i>E.muris/E.chaffeensis</i>	+	-	-
6.	ДНК <i>R.heilongjiangensis</i>	+	+	+
Микст-инфицирование				
7.	ВКЭ+ <i>B.b.s.l.</i>	+	-	-
8.	ВКЭ+ <i>B.m.</i>	+	-	-
9.	ВКЭ+ <i>B.b.s.l.</i> + <i>B.m.</i>	+	-	-
10..	ВКЭ+ <i>B.b.s.l.</i> + <i>B.m.</i> + <i>R.h.</i>	+	-	-
11.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>B.m.</i>	+	+	+
12.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>A.ph.</i>	+	-	-
13.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>E.m./E.ch.</i>	+	-	-
14.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>R.h.</i>	+	-	+
15.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>B.m.</i> + <i>R.h.</i>	+	-	-
16.	<i>B.b.s.l.</i> + <i>B.m.</i> + <i>R.h.</i> + <i>A.ph.</i>	+	-	-
17.	<i>B.m.</i> + <i>R.h.</i>	+	-	-
18.	<i>B.m.</i> + <i>R.h.</i> + <i>A.ph.</i>	+	-	-
19.	<i>R.h.</i> + <i>E.m./E.ch.</i>	+	-	-
20.	<i>R.h.</i> + <i>A.ph.</i>	+	-	+

Примечание: + – возбудитель обнаружен, - – возбудитель не обнаружен; *B.b.s.l.* - *Borrelia burgdorferi s.l.*; *B.m.* – *Borrelia miyamotoi*; *R.h.* – *Rickettsia heilongjiangensis*; *A.ph.* – *Anaplasma phagocytophilum*; *E.m./E.ch.* – *Ehrlichia muris/E.chaffeensis*.

Клещ *I. persulcatus* был инфицирован всеми видами искоемых патогенов в различных сочетаниях. Клещ *D. silvarum* был заражён вирусом КЭ, возбудителями ИКБ и *R. heilongjiangensis*. При этом, микст-инфицирование данного вида клеща было выявлено только в сочетании *B.burgdorferi s.l.*+*B.miyamotoi*. Клещи рода *Haemaphysalis* были инфицированы всеми видами искоемых патогенов, за исключением *E.muris/E.chaffeensis*, в том числе в различных сочетаниях.

Заключение

Изучение показателей инфицирования возбудителями трансмиссивных инфекций иксодовых клещей разных видов, удаленных после присасывания к человеку – важный элемент мониторинга за функциональной активностью природных очагов, которые на территории Хабаровского края, как правило, являются сочетанными.

Полученные результаты подтверждают поливекторность очагов клещевых трансмиссивных инфекций на территории края. Переносчиками вируса КЭ, возбудителей ИКБ, клещевого риккетсиоза являются все 4 вида клещей, имеющих эпидемиологическое значение. Возбудители ГАЧ были выявлены в клещах *I.persulcatus* и клещах рода *Haemaphysalis*. Возбудители МЭЧ были выявлены только у *I.persulcatus*, что, вероятно, связано с небольшим числом исследованных особей других видов иксодовых клещей при низких показателях инфицированности. Для подтверждения поливекторности очагов МЭЧ на территории Хабаровского края необходимы дальнейшие исследования.

Литература

1. Волков В.И. Иксодовые клещи Приамурья // Кровососущие членистоногие и борьба с ними в районах новостроек Дальнего Востока. – Л, 1977. – С.17-42.
2. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. – Новосибирск: Наука, 2015. – 244 с.
3. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. – М., 2013. – 465 с.
4. Коренберг Э.И. Природная очаговость болезни: к 70-летию теории // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, – 2010. – № 1 (50). – С. 5-9.
5. Кучерук В.В. Природноочаговые болезни – основные термины и понятия // Избранные труды. – М., 2006. – С. 494-506.
6. Леонова Г.Н., Бондаренко Е.И., Иванис В.А. и др. Первые случаи заболевания, вызванного *B.miyamotoi* на Дальнем Востоке России // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2017. – № 3. – С. 57-64.
7. Медико-экологический атлас Хабаровского края и ЕАО / Под ред. В.И. Волкова. – Хабаровск, 2005. – 110 с.
8. Мжельская Т.В., Бондаренко Е.И., Иванов Л.И. и др. Результаты молекулярно-генетического анализа клинического материала от пациентов с подозрением на инфекции, передающиеся иксодовыми клещами // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2016. – № 31. – С. 59–63.
9. Платонов А.Е., Карань Л.С., Гаранина С.Б. и др. Природно-очаговые инфекции в XX веке в России // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2009. – № 2. – С. 30-35.
10. Рудаков Н.В. Риккетсии и риккетсиозы: руководство для врачей / Омск: ООО «Издательский центр "Омский научный вестник"», 2016. – 424 с.
11. Таёжный клещ *Ixodes persulcatus* Shulze: морфология, систематика, экология, медицинское значение / Под ред. Н.А. Филипповой. – Л., 1985. – 416 с.
12. Фоменко Н.В., Ливанова И.Н., Баргояков В.Ю. и др. Выявление *B.miyamotoi* в клещах *Ixodes persulcatus* на территории России // Паразитология. – 2010. – № 3. – Т. 44. – С. 201-210.
13. Шпынов С.Н., Рудаков Н.В., Ястребов В.К. и др. Первое выявление *Rickettsia heilongjiangensis* в клещах *Haemaphysalis concinna* на территории России // Здоровье населения и среда обитания, – 2003. – № 12 (129). – С. 16-20.
14. Mediannikov O., Sidelnikov Y., Ivanov L. et al. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East // Emerg Infect Dis. – 2004. № 5, Vol. 10. – P. 810-817.

Сведения об авторах:

Ответственный автор: Романова Альбина Петровна – младший научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других природно-очаговых инфекций ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора тел.8(4212)46-18-59