

ДИНАМИКА ЗАРАЖЕННОСТИ БАКТЕРИЯМИ РОДА *BORRELIA* И ВИРУСОМ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА КЛЕЩЕЙ, СОБРАННЫХ В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.А. Бессолицына¹, С.А. Волков¹, Ф.С. Столбова²

¹ Вятский государственный университет, г. Киров, Россия

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия, г. Киров, Россия

Резюме. Клешевой энцефалит и клещевой боррелиоз (болезнь Лайма) — наиболее известные и распространенные трансмиссивные болезни человека. В настоящее время показано, что оба эти заболевания могут диагностироваться и у домашних животных. Векторами для их распространения выступают иксодовые клещи, широко распространенные на территории Российской Федерации. Чаще всего на предмет инфицирования исследуются только клещи, снятые с человека, что не дает полной картины по распределению возбудителей данных заболеваний в популяции клещей. Таким образом, возникает необходимость исследования клещей, собранных не только с человека. В рамках данного исследования проводилось определение наличия генетического материала вируса клещевого энцефалита, а также бактерий группы *Borrelia burgdorferi sensu lato*, в клещах, собранных в период 2007–2016 гг., с учетом их видовой и половой принадлежности, а также с учетом объекта, с которого клещ был снят. Определены основные виды клещей, являющиеся переносчиками возбудителей на территории Кировской области. Было показано независимое колебание частоты зараженности исследуемыми возбудителями у клещей разных видов. Кроме того, была обнаружена тенденция к постепенному росту зараженности клещей с течением времени. Чаще всего исследуются только самки клещей, так как они длительное время после укуса остаются на человеке или животных. В то же время было показано, что самцы клещей также могут являться переносчиками возбудителей, несмотря на кратковременный укус. Было установлено, что процент зараженности самцов со временем возрастает. Доля инфицированных самок также возрастает, что согласуется с общим ростом зараженности клещей. Были показаны колебания зараженности клещей разных видов. Колебания могут быть связаны с распространением на территории области клещей, не характерных для данной местности. Причины расширения ареала могут быть связаны с изменением климата. Различия зараженности клещей разных видов могут быть связаны с тем, что изучаются как виды обычные для Кировской области, так и виды, которые только проникают на данную местность. Также была изучена доля инфицированных клещей в зависимости от источника их сбора. Было показано, что наибольший процент зараженности имеют клещи, снятые с человека, а наименьший — снятые с травяного покрова.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, клещевой боррелиоз, *Borrelia burgdorferi s.l.*, иксодовые клещи, идентификация, обратная транскрипция, полимеразная цепная реакция.

Адрес для переписки:

Волков Станислав Александрович
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36,
ФГБОУ ВО Вятский государственный университет.
Тел.: 8 (922) 926-61-05 (моб.).
E-mail: volkov210691@mail.ru

Contacts:

Stanislav A. Volkov
610000, Russian Federation, Kirov, Moskovskaya str., 36,
Vyatka State University.
Phone: +7 (922) 926-61-05 (mobile).
E-mail: volkov210691@mail.ru

Библиографическое описание:

Бессолицына Е.А., Волков С.А., Столбова Ф.С. Динамика зараженности бактериями рода *Borrelia* и вирусом клещевого энцефалита клещей, собранных в Кировской области // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 2. С. 171–180. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-171-180

Citation:

Bessolytsina E.A., Volkov S.A., Stolbova F.S. Dynamics of ticks' infestation with *Borrelia* genus bacteria and tick-borne encephalitis virus in Kirov region // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 171–180. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-171-180

DYNAMICS OF TICKS' INFESTATION WITH *BORRELIA* GENUS BACTERIA AND TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IN KIROV REGION

Bessolitsyna E.A.^a, Volkov S.A.^a, Stolbova F.S.^b

^a Vyatka State University, Kirov, Russian Federation

^b Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russian Federation

Abstract. Tick-borne encephalitis and tick-borne borreliosis (or Lyme disease) are one of the most known and the most spread transmissible diseases of human. Nowadays it was proved that these diseases are diagnosed among domestic animals as well. Ixodida ticks are often serve as vectors for these diseases. It is common that only ticks gathered from human after bite are studied for presence of infection. But such approach does not give a full distribution picture of infection among the ticks. Thus, it is necessary to study ticks gathered not only from human but from other sources as well. The aim of this study is to determine the presence of TBEV and *Borrelia burgdorferi* sensu lato genetic material in ticks depending on its species, sexual identity and object it was gathered from in 2007–2016. The main tick vectors were determined. It was shown that percentage of infected with different diseases ticks fluctuates separately during the period of the study. It was also shown that percentage of infected ticks tends to increase. It is often that only tick female are studied as it stay for a long time after the bite. But it was proved that male ticks can also be a vector for diseases. It was proved that percentage of infected male ticks is increasing. The percentage of infected female ticks is also increasing along with general percentage of infected ticks. Fluctuations of percentage of infected ticks among different species was shown. Such fluctuation can be a sign tick's areal spreading at unusual territories. It can be related to climate change. The difference of percentage of infected ticks of different species can be related to the study of ticks usual for the area and ticks which migrate to the Kirov region. The percentage of infected ticks was also studied. It was also proved that the maximum percentage of infected ticks had the ones gathered from human and minimal percentage had the ones gathered from plants.

Key words: tick-borne encephalitis virus, tick-borne borreliosis (Lyme disease), *Borrelia burgdorferi* s.l., Ixodida ticks, identification, reverse transcription, polymerase chain reaction.

Введение

Клещевой энцефалит и клещевой боррелиоз — это наиболее известные и распространенные трансмиссивные заболевания человека, кроме того оба этих заболевания диагностируются и у домашних животных [8].

Клещевой энцефалит (tick borne encephalitis, TBE) — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного мозга и/или оболочек головного и спинного мозга. Заболевание может привести к стойким неврологическим, психиатрическим осложнениям и летальному исходу [6].

Вирус клещевого энцефалита (ТБЕВ) — это нейротропный, РНК-содержащий вирус, который относится к роду *Flavivirus* и входит в семейство *Flaviviridae* экологической группы арбовирусов [6]. Данный возбудитель выявляется на территории от Западной Европы до Дальнего Востока [5].

Клещевой боррелиоз — это системное заболевание, характеризующееся полиморфизмом клинических проявлений и часто имеющее хроническое и рецидивирующее течение. При боррелиозной инфекции поражаются кожные покровы, нервная и сердечно-сосудистая система, опорно-двигательный аппарат [3].

В настоящее время показано, что возбудители данного заболевания относятся к группе *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.). Данная группа бактерий включает в себя 18 геновидов [14]. Показано, что в Европе лишь некоторые из них являются патогенными для человека: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), а патогенность других видов не является полностью определенной [7]. Хотя все патогенные геновиды могут вызывать мигрирующую эритему, разные представители данной группы могут приводить к специфическим для них нарушениям в организме хозяина. *B. burgdorferi* s.s. чаще всего ассоциируется с артритом и поражениями нервной системы (нейроборрелиоз), *B. garinii* — с нейроборрелиозом, а *B. afzelii* — с хроническими поражениями кожи [14].

Экологически возбудители клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза тесно связаны с иксодовыми клещами и их прокормителями. Основным видом клещей, зараженных трансмиссивными заболеваниями в Европе, является вид *Ixodes ricinus*. Однако в Российской Федерации, в ее как европейской, так и азиатской частях, выявляется большое количество клещей вида *Ixodes persulcatus*, в которых также обнаруживается вирус клещевого энцефалита [9]. Кроме этих двух основных видов, в результате изменения климата, в южной

части Европы и европейской части Российской Федерации наблюдается рост количества клещей вида *Dermacentor reticulatus*, в организмах которых также обнаружен вирус клещевого энцефалита [2].

Еще одним важным вопросом является оценка зараженности клещей в зависимости от их пола. Считается, что инфекционные агенты передаются в организм человека при укусе самок. Но не исключено, что инфекция передается и при укусе самца, несмотря на то, что кратковременный укус самца чаще всего не детектируется, самцы также являются переносчиками трансмиссивных заболеваний [1].

В органах Роспотребнадзора на наличие возбудителей клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита исследуют только клещей, снятых с человека, однако данные заболевания выявляются не только у человека, но и у домашних животных [8]; кроме того домашние животные тесно контактируют с человеком, и зараженный клещ может переместиться с животного на человека и при укусе стать причиной заболевания.

Таким образом, целью исследования являлось определение с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) генетического материала вируса клещевого энцефалита, а также ДНК бактерий группы *Borrelia burgdorferi* s.l. методом ПЦР, в клещах, собранных в период 2007–2016 гг., с учетом их видовой и половой принадлежности, а также с учетом объекта, с которого клещ был снят.

Материалы и методы

Сбор клещей, определение вида и половой принадлежности. Сбор клещей проводили с растительного покрова на движущегося учетчика и флаг или волокушу из вафельной ткани размером 60 × 100 см [4], а также вручную — с людей и домашних животных (собак, кошек).

Идентификацию клещей, выделенных из природных источников, проводили по определительным таблицам Н.А. Филипповой [4].

Выделение суммарных нуклеиновых кислот. Суммарные нуклеиновые кислоты (НК) экстрагировали с помощью гуанидинтиоизоцианатного метода [12] из клещей, фиксированных в 70% этиловом спирте.

Анализ на наличие генетического материала бактерий группы Borrelia burgdorferi s.l. Для амплификации использовали пару праймеров:

- 5S-23S spacer F 5'-GAGAGTAGGTTATTGCCAGGG-3';
- 5S-23S spacer R 5'-ACCATAGACTCTTATTACTTTGACCA-3' [13].

Состав реакционной смеси для ПЦР: 0,5 мкл пробы (50 нг), однократный буфер для ПЦР без магния («Sybenzyme»), 1,5 mM MgCl₂, 200 мкмоль смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов («Sybenzyme»), прямой и обратный праймеры по 10 пмоль каждого («Syntol»), 1,25 ед. а. Таq-полимеразы («Sybenzyme»), вода до конечного объема 10 мкл.

Условия ПЦР: 1 цикл денатурации — 94°C, 5 мин; 40 циклов — 94°C, 30 с; 42°C, 30 с и 72°C, 30 с; 1 цикл достройки — 72°C, 5 мин.

Продукты амплификации разделяли в 6% нативном полиакриламидном геле, гель окрашивали бромистым этидием [12].

Достоверность различий оценивали с использованием двустороннего критерия Фишера [11] с уровнем значимости 0,05.

Анализ на наличие генетического материала вируса клещевого энцефалита. Исследование нуклеиновых кислот, выделенных из клещей, проводили с использованием обратной транскрипции — полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Для проведения реакции обратной транскрипции был использован праймер: TBEV-R 5'-ctc-atg-ttc-agg-ccc-aac-ca-3' [10]

Для амплификации использовали следующие праймеры:

- TBEV-E(F) 5'-aca-ccg-gag-act-atg-ttg-ccg-ca-3';
- TBEV-E(R) 5'-ccg-ttg-gaa-ggt-gtt-ca-ct-3';
- TBEV-S(F) 5'-g(g/t)g-gat-gtg-tca-cga-tca-ct-3';
- TBEV-S(R) 5'-gc(c/t)-gt(c/t)-gga-agg-tgt-tcc-aga-3' [10].

Состав реакционной смеси для ПЦР: 0,5 мкл пробы (50 нг), однократный буфер для ПЦР без магния («Sybenzyme»), 3 mM MgCl₂, 200 мкмоль смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов («Sybenzyme»), прямой и обратный праймеры по 10 пмоль каждого («Syntol»), 1,25 ед. а. Таq-полимеразы («Sybenzyme»), вода до конечного объема 10 мкл.

Условия ПЦР: 1 цикл денатурации — 94°C, 5 мин; 40 циклов — 94°C, 30 с; 57°C, 30 с и 72°C, 30 с; 1 цикл достройки — 72°C, 5 мин.

Продукты амплификации разделяли в 6% нативном полиакриламидном геле, который окрашивали бромистым этидием [12].

Результаты

В период с 2007 по 2016 гг. было исследовано 1274 клеща из 26 районов Кировской области. Была определена видовая принадлежность исследованных клещей. В период с 2007 по 2016 гг. были исследованы клещи трех видов: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*. Было исследовано 983 клеща вида *Ixodes persulcatus*, 265 клеща — *Dermacentor reticulatus*

Таблица 1. Процент зараженности клещей в Кировской области вирусом клещевого энцефалита и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l., а также козараженности этими возбудителями в период с 2007 по 2016 гг.

Table 1. Percentage of ticks infected with TBEV and *Borrelia burgdorferi* s.l. microorganisms in Kirov region and coinfection with these causative agents in 2007–2016

Год Year	Суммарное количество клещей Total number of ticks	Боррелиоз, % Infected with Lyme disease, %	TBEV, % Infected with TBEV, %	Козараженность боррелиозом и TBEV, % Coinfestation with Lyme disease and TBEV, %
2007	28	35,7	7,1	3,6
2008	71	26,8	12,7	4,2
2009	92	23,9	8,7	2,2
2010	164	31,7	10,9	5,5
2011	155	30,9	17,4	9,7
2012	144	20,1	22,9	6,9
2013	59	20,3	8,5	1,7
2014	193	31,6	16,1	6,7
2015	208	42,3	20,7	11,1
2016	160	30,6	22,5	8,75

и 26 клещей вида *Ixodes ricinus*. Результат исследования зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l., а также козараженности обоими возбудителями в период с 2007 по 2016 гг., представлены в таблице 1.

В ходе исследования был также определен пол собранных клещей; за период с 2007 по 2016 гг. была исследована 1001 самка и 273 самца. Результаты исследования зараженности самцов и самок возбудителями представлены в таблице 2.

Также в ходе исследования был изучен процент одновременного заражения клещей различными возбудителями. Результаты исследования козараженности представлены в таблице 3.

Клещи были собраны с нескольких объектов: с растительного покрова — 151 клещ; с одежды человека — 214, с кошек — 145, с собак — 764. Все образцы клещей были проанализированы на предмет зараженности сибирской и европейской формами клещевого энцефалита. Результаты исследования представлены в таблице 4.

Обсуждение

ПЦР-анализ зараженности клещей вирусом Tick-Borne Encephalitis и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l.

Зараженность вирусом определяли при исследовании суммарных нуклеиновых кислот, выделенных из каждого клеща, методом

ОТ-ПЦР. В реакции с праймерами TBEV-E(F) и TBEV-E(R) образуется фрагмент длиной 200 п.н., а в реакции с праймерами TBEV-S(F) и TBEV-S(R) длина ПЦР-продукта составляет 353 п.н. Праймеры подобраны для выявления двух изоформ (сибирской и европейской) вируса клещевого энцефалита; в данном анализе осуществляли суммирование клещей зараженных, сибирской и европейской изоформами, за исключением случаев, когда один клещ заражен обоими изоформами.

Зараженность бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. определяли при исследовании суммарных нуклеиновых кислот методом ПЦР с использованием праймеров 5S-23S spacer F и 5S-23S spacer R, в результате выявляется фрагмент ДНК длиной 228 п.н.

Анализ зараженности клещей

В ходе исследования было показано, что процент зараженности бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. несколько выше, чем вирусом клещевого энцефалита. Но для обоих возбудителей заболеваний наблюдается постепенный рост процента зараженности, а также его колебания в течении времени. В случае возбудителя клещевого боррелиоза первый пик процента зараженности наблюдается в самом начале исследований в 2007 г. (35,7%), следующий пик зараженности наблюдается в 2015 г. (42,3%). В случае клещевого энцефалита также наблюдается два основных пика: в 2012 (22,9%) и в 2016 (22,5%) гг., но, с учетом постепенного нарастания процента заражен-

Таблица 2. Процент зараженности самцов и самок клещей в Кировской области вирусом клещевого энцефалита и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l., а также козараженности этими возбудителями в период с 2007 по 2016 гг.

Table 2. Percentage of male and female ticks infected with TBEV and *Borrelia burgdorferi* s.l. microorganisms in Kirov region and coinfection with these causative agents in 2007–2016

Год Year	Пол Sexual identity	Суммарное количество клещей Total number of ticks	Боррелиоз, % Infected with Lyme disease, %	TBEV, % Infected with TBEV, %	Козараженность боррелиозом и TBEV, % Coinfection with Lyme disease and TBEV, %
2007	Самки Female	18	22,2	5,5	0
	Самцы Male	10	60	10	10
2008	Самки Female	58	29,3	15,5	5,2
	Самцы Male	13	15,4	0	0
2009	Самки Female	76	23,7	10,5	2,6
	Самцы Male	16	25	0	0
2010	Самки Female	114	32,5	12,3	6,1
	Самцы Male	50	30	8	4
2011	Самки Female	130	30,8	20,8	11,5
	Самцы Male	25	32	0	0
2012	Самки Female	107	19,6	22,4	8,4
	Самцы Male	37	21,6	24,3	2,7
2013	Самки Female	47	23,4	10,6	2,1
	Самцы Male	12	8,3	0	0
2014	Самки Female	154	27,9	16,9	6,5
	Самцы Male	39	46,1	12,8	7,7
2015	Самки Female	168	36,9	21,4	10,1
	Самцы Male	40	65	17,5	15
2016	Самки Female	129	24	20,9	7,7
	Самцы Male	31	58,1	29	12,9

Таблица 3. Процент зараженности клещей различных видов в Кировской области вирусом клещевого энцефалита и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l., а также козараженности этими возбудителями в период с 2007 по 2016 гг.

Table 3. Percentage of ticks of different species infected with TBEV and *Borrelia burgdorferi* s.l. microorganisms in Kirov region and coinfection with these causative agents in 2007–2016

Год Year	Вид Species	Суммарное количество клещей Total number of ticks	Боррелиоз, % Infected with Lyme disease, %	TBEV, % Infected with TBEV, %	Козараженность боррелиозом и TBEV, % Coinfection with Lyme disease and TBEV, %
2007	<i>I. persulcatus</i>	28	35,7	7,1	3,6
2008	<i>I. persulcatus</i>	71	26,8	12,8	4,2
2009	<i>I. persulcatus</i>	92	23,9	8,7	2,2
2010	<i>I. persulcatus</i>	102	33,3	11,8	4,9
	<i>D. reticulatus</i>	62	29	9,7	6,4
2011	<i>I. persulcatus</i>	137	33,6	19,7	10,9
	<i>D. reticulatus</i>	18	11,1	0	0
2012	<i>I. persulcatus</i>	110	20,9	30	5,4
	<i>D. reticulatus</i>	34	17,6	0	0
2013	<i>I. persulcatus</i>	40	15	10	2,5
	<i>D. reticulatus</i>	19	31,6	5,3	0
2014	<i>I. persulcatus</i>	89	10,1	5,6	0
	<i>I. ricinus</i>	26	38,5	26,9	0
	<i>D. reticulatus</i>	78	58,8	24,4	16,7
2015	<i>I. persulcatus</i>	179	40,2	22,1	10,6
	<i>D. reticulatus</i>	29	51,7	17,2	13,8
2016	<i>I. persulcatus</i>	134	30,6	21,6	8,9
	<i>D. reticulatus</i>	24	29,2	29,2	8,3

ности, можно выявить еще один пик в 2008 г. (12,7%). Пики зараженности бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. имеют больший период, составляющий семь лет, тогда как возрастание зараженности клещей вирусом TBEV происходит с большей частотой: период между пиками составляет всего четыре года. Пики зараженности клещей возбудителями заболевания не совпадают, что позволяет говорить о том, что заражение каждым из исследуемых возбудителей происходит независимо. При исследовании процента козараженности клещей двумя возбудителями также наблюдаются колебания и два максимальных пика: в 2011 (9,7%) и 2015 (11,1%) гг. В данном случае явный период между пиками составляет четыре года, то есть наблюдается не только увеличение процента козараженности, но и увеличение частоты возникновения пиков. Нарастание частоты пиков козараженности можно связать с ростом общего процента зараженности каждым воз-

будителем по отдельности, однако динамика изменения козараженности также не зависит от динамики зараженности вирусом TBEV и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. Это подтверждает предположение об отсутствии связей между заражением вирусом клещевого энцефалита и возбудителем клещевого боррелиоза.

Анализ половой принадлежности клещей

Считалось, что переносчиками трансмиссивных заболеваний являются только самки клещей. Это связано с тем, что укус самца кратковременный и его часто не замечают. Поэтому самцы клеща редко подвергаются исследованию медицинскими учреждениями на предмет их зараженности возбудителем клещевого энцефалита. Тем не менее, самцы также являются носителями трансмиссивных заболеваний [1]. В ходе исследования была проанализирована динамика зараженности

Таблица 4. Процент зараженности клещей, снятых с различных объектов Кировской области, вирусом клещевого энцефалита и бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l., а также козараженности этими возбудителями в период с 2007 по 2016 гг.

Table 4. Percentage of ticks gathered from different objects and infected with TBEV and *Borrelia burgdorferi* s.l. microorganisms in Kirov region and coinfection with these causative agents in 2007–2016

Объект сбора Source of tick	Суммарное количество клещей Total number of ticks	Боррелиоз, % Infected with Lyme disease, %	TBEV, % Infected with TBEV, %	Козараженность боррелиозом и TBEV, % Coinfestation with Lyme disease and TBEV, %
Кошка Cat	145	33,1	16,5	6,9
Собака Dog	764	28,4	16,4	6,4
Травяной покров Vegetation cover	151	20,5	9,3	2
Одежда человека Human clothes	214	43,9	22,4	12,6

самцов и самок, собранных в Кировской области за период исследования, результаты представлены в таблице 2.

В целом количество исследованных самцов меньше, чем самок, это связано и их размерами и кратковременностью укуса. Анализ зараженности клещей бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. показал, что в 2007 г. и в период с 2014 по 2016 гг. процент зараженности самцов выше, чем процент зараженности самок. Расчет χ^2 показал, что различия между процентами зараженности статистически достоверны. Значение χ^2 для 2007 г. составило 4, для 2014 — 4,79, для 2015 — 10,26, для 2016 — 13,63. Следует отметить, что годы, в которые наблюдается преобладание зараженных самцов, совпадают с общим возрастанием процента зараженности (табл. 1). В период с 2008 по 2013 гг. достоверных различий процентов зараженности самцов и самок не наблюдается. Изучение зараженности самцов и самок клещей вирусом клещевого энцефалита показало, что процент зараженности либо сопоставим, либо процент зараженных самок незначительно выше, но эти различия статистически не достоверны. Исключение составляют результаты анализа в 2011 г., когда процент зараженности самок также был выше, но различия статистически достоверны (значение χ^2 6,29)

Козараженность самцов обоими видами возбудителей была выше в 2007 г. и в период с 2014 по 2016 гг., то есть совпадает с пиками зараженности самцов возбудителем клещевого боррелиоза, однако статистической достоверности между процентами козараженности самцов и самок не наблюдается.

Анализ видовой принадлежности клещей

Исследования зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита в странах Европы показало, что носителями данного вируса могут быть клещи 14 видов. В Кировской области были собраны клещи, относящиеся к трем разным видам и был проведен анализ процента зараженности этих клещей в зависимости от видовой принадлежности, результаты представлены в таблице 3.

За период исследований были выявлены клещи трех видов: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*. *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus* выявляются в странах Европы и в Российской Федерации. Клещи данных видов обычны для Кировской области, но вид *Ixodes ricinus* чаще встречается в Западной и Северной Европе, а в Кировской области более распространен вид *Ixodes persulcatus*, который характерен для Евразии и Российской Федерации [9]. В период с 2007 по 2009 гг. в Кировской области были выявлены только клещи вида *Ixodes persulcatus*, поэтому не представляется возможным оценить связь между процентом зараженности и видовой принадлежностью клеща-носителя. Но с 2010 г. в Кировской области выявлялись клещи двух видов: *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus*. Клещи вида *Dermacentor reticulatus* выявляются в основном значительно южнее Кировской области, однако изменение погодных условий, связанное с потеплением климата, могло стать причиной расширения ареала *Dermacentor reticulatus* на север и стать причиной их обнаружения в Кировской области [2]. В 2014 г. также были обнаружены клещи вида *Ixodes ricinus*.

Анализ зараженности клещей видов *Dermacentor reticulatus* и *Ixodes persulcatus* бактериями *Borrelia burgdorferi* s.l. показал, что в обоих видах клещей выявляются бактерии этой группы. В 2010 г. процент зараженности возбудителями боррелиоза у клещей вида *Ixodes persulcatus* выше, чем у вида *Dermacentor reticulatus*, но различия статистически недостоверны. В 2011 г. также наблюдается более низкий процент зараженности клещей вида *Dermacentor reticulatus*, но различия уже статистически достоверны (значение χ^2 4,57). В 2012 и 2013 гг. достоверные различия отсутствуют, но в 2013 г. процент зараженности клещей вида *Dermacentor reticulatus* выше, чем вида *Ixodes persulcatus*. В 2014 г. процент зараженности бактериями *Borrelia burgdorferi* s.l. клещей вида *Dermacentor reticulatus* также выше, чем клещей вида *Ixodes persulcatus*, причем эти различия статистически достоверны (значение χ^2 37,48). В этот же год были проанализированы клещи вида *Ixodes ricinus*. Процент зараженности клещей вида *Ixodes ricinus* возбудителями клещевого боррелиоза сопоставим с процентом зараженности клещей вида *Dermacentor reticulatus* (значение χ^2 1,85), и статистически достоверно различается с зараженностью клещей вида *Ixodes persulcatus* (значение χ^2 1,73). Клещи видов *Dermacentor reticulatus* и *Ixodes ricinus* являются нетипичными для Кировской области, что может объяснять разницу в проценте зараженности между видом, обычным в данной местности, и видами, которые только проникают в Кировскую область.

Анализ зараженности клещей разных видов ТБЕВ показывает, что клещи вида *Ixodes persulcatus* имеют больший процент зараженности в период с 2010 по 2013 гг., но только в 2011 и 2012 гг. эти различия статистически достоверны (значения χ^2 4,3 и 13,23 соответственно). В 2014 г. процент зараженности клещей вида *Dermacentor reticulatus* больше, чем вида *Ixodes persulcatus*, причем различия статистически достоверны (значение χ^2 11,86). Аналогичная ситуация наблюдается по результатам изучения процента зараженности клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*. Процент зараженности ТБЕВ клещей вида *Ixodes ricinus* выше, чем вида *Ixodes persulcatus*, и различия также статистически достоверны (значение χ^2 9,77). Затем в 2015 и 2016 гг. процент зараженности клещей разных видов вновь стал сопоставим.

Изучение процента козараженности возбудителями клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза показало, что в период с 2010 по 2013 гг. процент зараженности клещей вида *Ixodes persulcatus* выше, чем клещей

вида *Dermacentor reticulatus*, но эти различия статистически недостоверны. В 2014 г. наблюдаются статистически достоверные различия процента зараженности вирусом клещевого энцефалита между клещами видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus* (значение χ^2 16,09), причем процент козараженности клещей вида *Dermacentor reticulatus* выше, чем вида *Ixodes persulcatus*. При этом проценты козараженности клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus* равны нулю и, как следствие, статистически не различаются. Такие различия процента зараженности клещей разных видов можно объяснить тем, что виды, чей процент зараженности различается со статистической достоверностью, являются нетипичными для данной области. Наблюдается проникновение этих видов на новую территорию и, как следствие, заражение новых видов трансмиссивными заболеваниями через животных-хозяев.

Анализ клещей из различных источников

В медицинских учреждениях и органах Роспотребнадзора анализируются только клещи, снятые с человека в момент укуса, это позволяет определить зараженность клеща и провести профилактические мероприятия, но для более полной эпидемиологической картины зараженности трансмиссивными заболеваниями, в том числе и клещевым энцефалитом, необходимо изучить процент зараженности клещей, снятых с других объектов: домашних животных, которые могут контактировать с человеком, а также с травяного покрова. Поэтому в рамках данной работы исследовались клещи, снятые с одежды человека, собак, кошек и травяного покрова. Результаты представлены в таблице 4.

Процент зараженности бактериями группы *Borrelia burgdorferi* s.l. клещей, собранных с собак и кошек, сопоставим. При этом он отличается от процента зараженности клещей, собранных с одежды человека. Процент зараженности возбудителем клещевого энцефалита клещей, собранных с одежды человека, выше, чем клещей, собранных с собак и кошек, причем различия статистически достоверны (значения χ^2 18,57 и 4,23 соответственно). Кроме того, клещи, собранные с травяного покрова, имеют меньший процент зараженности, чем клещи, собранные с одежды человека, кошек и собак (значения χ^2 21,52; 5,98 и 3,96 соответственно).

Анализ зараженности клещей, снятых с различных объектов, вирусом ТБЕВ показал, что наибольший процент клещей, зараженных

вирусом клещевого энцефалита, характерен для клещей, снятых с одежды человека. Клещи, снятые с собак и кошек, имеют меньший процент зараженности ТВЕV, чем клещи, снятые с человека, при этом процент зараженности клещей, снятых с человека и с собак имеют статистически достоверные различия (значение χ^2 4,23). Тогда как зараженность клещей, снятых человека и с кошек, статистически не различаются. Наименьший процент зараженности вирусом клещевого энцефалита выявлен у клещей, снятых с травяного покрова, причем процент зараженности этих клещей статистически достоверно отличается от процента зараженности ТВЕV клещей, собранных с одежды человека и с собак (значения χ^2 10,87 и 4,92 соответственно). При этом процент зараженности клещей возбудителями клещевого энцефалита, снятых с кошек, выше, чем клещей, снятых с травяного покрова, но эти различия статистически недостоверны.

Сходная ситуация наблюдается и с процентом козараженности обоими возбудителями. Процент козараженности клещей, снятых с собак и кошек, сопоставимы. Однако клещи, снятые с травяного покрова, имеют наименьший процент козараженности, причем различия процента козараженности клещей, снятых с кошек и травяного покрова и с собак и травяного покрова, имеют статистически достоверные различия (значения χ^2 4,25 и 4,61 соответ-

ственно). Наибольший процент козараженности наблюдается у клещей, снятых с человека. Но при этом статистически достоверные различия наблюдаются при сравнении процента козараженности клещей, снятых с собак и травяного покрова (значения χ^2 8,98 и 13,26 соответственно). При этом проценты козараженности клещей, снятых с человека и с кошек сопоставимы и статистически достоверных различий на имеют.

Выводы

Таким образом, трансмиссивные заболевания опасны как для человека, так и для домашних животных [8]. Кроме того, кошки и собаки тесно контактируют с человеком, и не удаленный вовремя клещ может переместиться с животного на человека и стать причиной заболевания в результате уже следующего укуса другого хозяина. Именно поэтому необходим анализ зараженности клещей, снятых не только с человека, но и с домашних животных, тесно контактирующих с человеком.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность заведующей ветеринарной лечебницей Беяевой Татьяне Анатольевне и ветеринарному врачу Хмелининой Нине Андреевне.

Список литературы/References

1. Бессолицына Е.А., Бердинских И.С., Столбова Ф.С., Дармов И.В. Анализ зараженности бактериями рода *Borrelia* клещей на территории Кировской области // Российский паразитологический журнал. 2012. № 4. С. 41–46. [Bessolitsyna E.A., Berdinskikh I.S., Stolbova F.S., Darmov I.A. The analysis of contamination by bacteria of genus *Borrelia* ticks in Kirov area. *Rossiiskii parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*, 2012, no. 4, pp. 41–46. (In Russ.)]
2. Волков С.А., Бессолицына Е.А., Столбова Ф.С., Дармов И.В. Анализ инфицированности клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Dermacentor reticulatus* трансмиссивными заболеваниями на территории Кировской области // Инфекция и иммунитет. 2016, Т. 6, № 2. С. 173–178. [Volkov S.A., Bessolytsina E.A., Stolbova F.S., Darmov I.V. Analysis of ticks of *Ixodes persulcatus* and *Dermacentor reticulatus* species with transmissible diseases in Kirov region. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 173–178. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-173-178 (In Russ.)]
3. Манзенюк И.Н., Манзенюк О.Ю. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма): пособие для врачей. Кольцово, 2005. 85 с. [Manzenyuk I.N., Manzenyuk O.Yu. Kleshchevye borreliozy (bolezni' Laima): posobie dlya vrachei [Lyme borreliosis (Lyme disease): manual for physicians]. *Koltsovo*, 2005. 85 p.]
4. Филиппова Н.А. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука, 1985. 416 с. [Filippova N.A. Taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): morphology, systematics, ecology, medical importance [Taezhnyi kleshch *Ixodes persulcatus* Schulze (Acraea, Ixodidae): morfologiya, sistematika, ekologiya, meditsinskoe znachenie]. *Leningrad: Nauka*, 1985. 416 p.]
5. Gunther G., Haglund M. Tick-borne encephalopathies: epidemiology, diagnosis, treatment and prevention. *CNS Drugs*, 2005, vol. 19, no. 12, pp. 1009–1032. doi: 10.2165/00023210-200519120-00004
6. Lindquist L., Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet*, 2008, vol. 371, no. 9627, pp. 1861–1871. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60800-4
7. Margos G., Vollmer S.A., Cornet M., Garnier M., Fingerle V., Wilske B., Bormane A., Vitorino L., Collares-Pereira M., Drancourt M., Kurtenbach K. A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, vol. 75, no. 16, pp. 5410–5416. doi: 10.1128/AEM.00116-09
8. Pfeffer M., Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs — is this an issue? *Parasites & Vectors*, 2011, vol. 4, no. 1: 59. doi: 10.1186/1756-3305-4-59

9. Randolph S.E. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*, 2004, vol. 129, iss. S1, pp. S37–S65. doi: 10.1017/S0031182004004925
10. Ruzek D., Stastna H., Kopecky J., Golovljova I., Grubhoffer L. Rapid subtyping of tick-borne encephalitis virus isolates using multiplex RT-PCR. *J. Virol. Meth.*, 2007, vol. 144, pp. 133–137.
11. Sahai H., Anwer Khurshid H. On analysis of epidemiological data involving A 2X2 contingency table: an overview of fisher's exact test and yates' correction for continuity. *J. Biopharm. Stat.*, 1995, vol. 1, no. 1, pp. 43–70. doi: 10.1080/10543409508835098
12. Sambrook J., Fritch T., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 1626 p.
13. Schouls L.M., Van De Pol I., Rijpkema S.G., Schot C.S. Detection and identification of Ehrlichia, Borrelia burgdorferi sensu lato, and Bartonella species in Dutch Ixodes ricinus ticks. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, vol. 37, no. 7, pp. 2215–2222.
14. Stanek G., Reiter M. The expanding Lyme Borrelia complex — clinical significance of genomic species? *Clin. Microbiol. Infect.*, 2011, vol. 17, no. 4, pp. 487–493. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03492.x

Авторы:

Бессолицына Е.А., к.б.н., доцент кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, г. Киров, Россия;

Волков С.А., аспирант кафедры микробиологии биологического факультета Вятского государственного университета, г. Киров, Россия;

Столбова Ф.С., к.б.н., доцент кафедры экологии и пчеловодства биологического факультета Вятской государственной сельскохозяйственной академии, г. Киров, Россия.

Authors:

Bessolytsina E.A., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Biological Faculty, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Volkov S.A., PhD Student, Department of Microbiology, Biological Faculty, Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;

Stolbova F.S., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Ecology and Beekeeping, Biological Faculty, Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russian Federation.

Поступила в редакцию 07.03.2017
Отправлена на доработку 10.03.2017
Принята к печати 03.04.2017

Received 07.03.2017
Revision received 10.03.2017
Accepted 03.04.2017