

# БАКТЕРИАЛЬНЫЕ И ВИРУСНЫЕ ПАТОГЕНЫ В КЛЕЩАХ *IXODES* sp. НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Ю.А. Панферова<sup>1</sup>, М.А. Суворова<sup>2</sup>, А.О. Шапарь<sup>3</sup>, Н.К. Токаревич<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ООО «Эксплана», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора г. Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Клещевые инфекции являются самой распространенной группой зооантропонозных заболеваний в Северном полушарии. Для региона Балтийского моря и Фенноскандии доминирующими инфекционными патологиями являются иксодовый клещевой боррелиоз и вирусный клещевой энцефалит. Наличие обширных облесенных территорий, активно посещаемых людьми в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, способствует достаточно высокому уровню покусанности клещами и распространению ВКЭ и ИКБ среди населения данных регионов. Определенную опасность представляют и относительно малоизученные патогены, которые могут переноситься с укусом клеща: *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. В данной работе была проведена детекция с помощью молекулярно-генетических методов ВКЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi sensu lato* и *Rickettsia* sp. в клещах, снятых с людей, а также голодных клещей, собранных с растительности. Установленные уровни инфицирования ВКЭ у напитавшихся клещей превышают таковые у голодных клещей, уровни пораженности патогенными боррелиями голодных и напитавшихся клещей оказались примерно равными. Риккетсии в напитавшихся клещах не были обнаружены. Проведен анализ распространенности патогенов в сравнении с данными отечественных и западных авторов. Мониторинг за распространением клещевых патогенов в очагах является важным направлением в профилактике инфекций, передаваемых с укусом клеща, на северо-западе России.

**Ключевые слова:** клещевые патогены, вирус клещевого энцефалита, боррелии, риккетсии, инфицированность, ПЦР-диагностика.

## BACTERIAL AND VIRAL PATHOGENS IN *IXODES* SP. TICKS IN ST. PETERSBURG AND LENINGRAD DISTRICT

Panferova Yu.A.<sup>a</sup>, Suvorova M.A.<sup>b</sup>, Shapar' A.O.<sup>c</sup>, Tokarevich N.K.<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Explana JSC, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>d</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Tick-borne infections are the most common group of zoonotic diseases in the Northern Hemisphere. For the Baltic Sea region and Fennoscandia, the dominant infectious pathologies transmitted by ticks are tick-borne borreliosis and tick-borne encephalitis. The presence of vast forested areas, actively visited by people in St. Petersburg and the Leningrad region, contributes to a rather high level of encroachment on the flares and intelligence of the borreliosis and tick-borne encephalitis among the population of these regions. The relatively dangerous pathogens that can be transmitted with the tick

### Адрес для переписки:

Панферова Юлия Александровна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, ФБУН НИИ  
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: (812) 232-21-36 (служебн.).  
Факс: (812) 233-20-92.  
E-mail: ersvart@inbox.ru

### Contacts:

Yulia A. Panferova  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 232-21-36 (office).  
Fax: +7 (812) 233-20-92.  
E-mail: ersvart@inbox.ru

### Библиографическое описание:

Панферова Ю.А., Суворова М.А., Шапарь А.О., Токаревич Н.К.  
Бактериальные и вирусные патогены в клещах *Ixodes* sp. на территории  
Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Инфекция и иммунитет.  
2018. Т. 8, № 2. С. 219–222. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-219-222

### Citation:

Panferova Yu.A., Suvorova M.A., Shapar' A.O., Tokarevich N.K. Bacterial and  
viral pathogens in *Ixodes* sp. ticks in St. Petersburg and Leningrad district //  
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018,  
vol. 8, no. 2, pp. 219–222. doi: 10.15789/2220-7619-2018-2-219-222

bite are also of particular danger: *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. In this work, detection was performed using molecular genetic methods of TBE virus, *B. burgdorferi* sensu lato and *Rickettsia* sp. in engorged ticks, as well as questing ticks collected from vegetation. The established levels of infection of TBE on infected ticks, levels of infection by pathogenic *Borrelia* of questing and engorged ticks were approximately equal. *Rickettsia* was not found in the ticks. The conducted analysis of the pathogens prevalence in comparison with the data of Russian and foreign authors. Monitoring the prevalence of tick-borne pathogens is an important issue in the prevention of tick-borne infections in the North-Western Russia.

**Key words:** tick-borne pathogens, tick-borne encephalitis virus, *Borrelia* sp., *Rickettsia* sp., infectivity rate, PCR detection.

Клещи и клещевые патогены являются важной проблемой для общественного здравоохранения на многих территориях Евразии. Северо-запад России, включая мегаполис Санкт-Петербург и прилегающие районы, относится к территориям, эндемичным по клещевым инфекциям, наиболее распространенными из которых являются вирусный клещевой энцефалит и клещевой боррелиоз. Эпидемиологическое значение на указанных территориях имеют таежный клещ (*Ixodes persulcatus*) и лесной клещ (*I. ricinus*) [5]. Клещи могут быть заражены несколькими патогенами бактериальной и вирусной природы, опасными для человека [6]. Возбудители иксодового клещевого боррелиоза на данных территориях представлены видами *Borrelia burgdorferi* sensu lato [3, 13]. В настоящее время также установлена циркуляция иных бактериальных патогенов в иксодовых клещах на территории России и сопредельных государств — стран Балтийского региона и Фенноскандии: *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp. [13, 14, 17]. Возможность инфицирования иксодовых клещей несколькими микроорганизмами увеличивает риск развития микст-инфекции у людей после укуса клеща и требует комплексного подхода к диагностике и профилактике клещевых инфекций.

Цель исследования: проведение индикации ДНК бактериальных патогенов (*B. burgdorferi* sensu lato complex, *Rickettsia* sp.) в клещах, снятых с людей и с растительности, с использованием ПЦР и вируса клещевого энцефалита с использованием ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

## Материалы и методы

Были исследованы клещи рода *Ixodes* sp., снятые с людей, обратившихся в диагностический центр по поводу укуса клеща. Во всех случаях присасывание клещей отмечали при нахождении на территории Ленинградской области и Санкт-Петербурга. Голодные клещи собирались на тканевый флаг на территории лесопарковых зон Санкт-Петербурга. Клещей индивидуально гомогенизировали в 100 мкл стерильного физиологического раствора. Выделение РНК и ДНК производилось с использованием набора «АмплиПрайм Рибо-преп» («Некстбио», Москва, Россия) согласно инструкции. Обратная транскрипция производилась с использованием набора «Реверта L-100» («Интерлабсервис», Москва, Россия) согласно инструкции производителя, в качестве матрицы использовали

10 мкл элюированной смеси нуклеиновых кислот. В напитавшихся клещах для определения ДНК *B. burgdorferi* sensu lato complex проводилась ПЦР с праймерами, фланкирующими фрагмент гена *ospC*, F: AAAGAATACATTAAGTGCATATT и R: GGGCTTGTAAGCTCTTAACT [12]. Для определения ДНК *Rickettsia* sp. проводили ПЦР с праймерами, фланкирующими фрагмент гена *gltA*, F: ATGGCTATTATGCTTGC GGCC и R: CAGAACTACCGATTTCTTTAAGC [11]. Для определения ВКЭ проводилась ОТ-ПЦР с праймерами, фланкирующими регион 5'-нетранслируемой области, Pp1 GCGTTTGCTTCGGACAGCATTAGC и Pml: GCGTCTTCGTTGCGGTCTCTTTCG [4]. Голодных клещей анализировали с помощью наборов «Амплисенс» для детекции вируса клещевого энцефалита и *B. burgdorferi* sensu lato («Интерлабсервис», Москва, Россия) согласно инструкции производителя. На присутствие риккетсий голодных клещей не исследовали. Для определения геновида боррелий в напитавшихся клещах проводилось секвенирование полученных ампликонов фрагмента гена *ospC*. Секвенирование проводили с использованием набора реагентов «BigDye Terminator v3.1» согласно инструкции производителя на автоматическом анализаторе «MegaBace 1000» («GE Healthcare», США). Полученные сиквенсы сравнивали с запонированными в базе данных GeneBank с использованием алгоритма megablast (по состоянию базы на 10 сентября 2015 г.). Расчет доверительных интервалов производился в приложении EpiTools.

## Результаты и обсуждение

Число голодных и снятых с людей клещей, инфицированных вирусом КЭ и боррелиями, представлено в таблице. Вирусофорность клещей, снятых с людей, ВКЭ составила 1% — 5 особей (доверительный интервал (ДИ) 95% 0,43–2,38). Присутствие ДНК *B. burgdorferi* sensu lato complex отмечено в 9,8% (у 48 особей) (95% ДИ 7,51–12,82). ДНК *Rickettsia* sp. в исследованных образцах не выявлена. Микст-инфекция ВКЭ и боррелиями не была обнаружена. Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей гена *ospC* боррелий позволило установить, что все обнаруженные образцы принадлежат к геновиду *Borrelia afzelii*.

Средняя численность голодных клещей, собранных на флаг, за исследованный период составила 1,5. Для голодных клещей инфицированность ВКЭ составила 0,3% (95% ДИ 0,1–0,92%), боррелиями — 12,3% (95% ДИ 10,32–14,5).

**Таблица. Инфицированность голодных клещей и клещей, снятых с людей, вирусом КЭ и возбудителями ИКБ**

Table. Prevalence of TBE virus and Lyme borreliosis agent in questing ticks and ticks, removed from patients

Число исследованных клещей Number of examined ticks		Инфицировано ВКЭ Infested by TBEV	Инфицировано боррелиями Infested by <i>Borrelia</i> sp.
Голодные (на флаг)/Questing (flagged)	946	3	116
Напитавшиеся/Engorged	487	5	48

Вирусный клещевой энцефалит и иксодовый боррелиоз являются распространенными природно-очаговыми заболеваниями умеренных широт Северного полушария. Усиливающаяся антропогенная нагрузка на природные ландшафты и изменение климата обуславливают повышение риска укуса клещами и заражения вирусными и бактериальными инфекциями, данная ситуация является актуальной и для северо-западных регионов России [16]. Установлено наличие сочетанных природных очагов инфекций, переносимых клещами, на территории России [8]; помимо достаточно хорошо изученных патогенов (ВКЭ, возбудители иксодового боррелиоза), в них могут циркулировать другие микроорганизмы, вызывающие заболевания человека (эрлихии, анаплазмы, риккетсии). Структура так называемых новых бактериальных клещевых инфекций в северо-западных регионах России к настоящему моменту остается недостаточно изученной. В данной работе проведена оценка распространенности вирусных (ВКЭ) и бактериальных (*B. burgdorferi* s.l., *Rickettsia* sp.) патогенов в клещах, собранных на флаг и снятых с людей, на территории Ленинградской области и Санкт-Петербурга.

Было установлено, что вирусофорность напитавшихся клещей ВКЭ за исследованный период составляет 1%. Эта величина является средней в рамках выявленной в странах Балтийского региона вирусофорности голодных клещей [9, 10, 15] и несколько превышает средний по России показатель вирусофорности клещей, снятых с людей (0,76%) [2]. Доля инфицированных голодных клещей в зеленых зонах Санкт-Петербурга была почти в 3 раза ниже. По данным некоторых исследователей, инфицирование вирусом КЭ может приводить к более высокой активности клеща [1]; этим может объясняться более высокая инфицированность напитавшихся клещей по сравнению с голодными.

Возбудители иксодового клещевого боррелиоза обнаружены в 9,8% напитавшихся клещей и в 12,3% голодных. Установлена циркуляция геновида *B. afzelii* в клещах, снятых с людей, что свидетельствует об ассоциации инфициро-

ванных клещей с наземными прокормителями, являющимися хозяевами для данного геновида. Стоит отметить, что выявленная нами распространенность боррелий в иксодовых клещах является относительно невысокой по сравнению с данными других исследователей [13], в то время как средняя распространенность боррелий среди клещей в Европе составляет 18% [7]. Не была обнаружена микст-инфекция исследованных переносчиков боррелиями и ВКЭ. В нашем исследовании был обнаружен лишь один геновид боррелий, *B. afzelii*, хотя другие исследователи приводят данные о распространении в регионе Прибалтики и Фенноскандии и других геновидов комплекса *B. burgdorferi sensu lato* [15].

Достоверно значимых различий в значении инфицированности клещей возбудителями ВКЭ и ИКБ среди голодных и напитавшихся не выявлено. Это может быть связано с относительно небольшим объемом выборки. Для получения более значимых результатов целесообразно увеличение количества исследуемых объектов.

В нашем исследовании ДНК риккетсий в клещах, снятых с людей, не была обнаружена, что согласуется с данными, полученными другими исследователями ранее [6]; вероятно, данные патогены имеют меньшее значение в инфицировании населения на исследованной территории, что не отрицает возможности их циркуляции в природных очагах и передачи с укусом клеща. Данные нашего исследования по превалентности риккетсий отличаются от данных других исследований, проведенных в странах Балтийского региона, преимущественно на голодных клещах, где патогенные риккетсии были обнаружены в 1,1–9,6% иксодид [11, 14, 17], и других регионах СЗФО Российской Федерации, где риккетсии обнаруживались в 1,6–2,8% клещей [6]. Несмотря на отсутствие риккетсий группы пятнистых клещевых лихорадок в клещах, снятых с людей, дальнейшие исследования, направленные на исследование голодных клещей в северо-западном регионе России, имеют ценность в изучении биологии этих микроорганизмов, а также для рациональной диагностики и профилактики инфекций, вызываемых ими.

## Список литературы/References

1. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В. Вирус клещевого энцефалита во внутренней среде клеща-переносчика: экологические аспекты // Бюллетень СО РАМН. 2007. Т. 27, № 4. С. 100–104. [Alekseev A.N., Dubinina E.V. Tick-borne encephalitis virus in the internal environment of the tick-vector: ecological aspects. *Byulleten' Sibirskogo Otdeleniya Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2007, vol. 27, no. 4, pp. 100–104. (In Russ.)]

2. Носков А.К., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яцменко Е.В., Веригина Е.В., Иннокентьева Т.И., Балахонov С.В. Клешевой вирусный энцефалит в Российской Федерации: особенности эпидемического процесса в период устойчивого спада заболеваемости, эпидемиологическая ситуация в 2016 г., прогноз на 2017 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. Т. 1. С. 37–43. [Noskov A.K., Nikitin A.Y., Andaev E.I., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Innokent'eva T.I., Balakhonov S.V. Tick-borne virus encephalitis in the Russian Federation: features of epidemic process in steady morbidity decrease period. Epidemiological condition in 2016 and the forecast for 2017. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, vol. 1, pp. 37–43. doi: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43 (In Russ.)]
3. Alekseev A.N., Dubinina H.V., Antykova L.P., Dzhivanyan T.I., Rijpkema S.G., Kruij N.V., Cinco M. Tick-borne borrelioses pathogen identification in Ixodes ticks (Acarina, Ixodidae) collected in St. Petersburg and Kaliningrad Baltic regions of Russia. *J. Med. Entomol.*, 1998, vol. 35, no. 2, pp. 136–142.
4. Bormane A., Zeltina A., Lucenko I., Mavcutko V., Duks A., Pujate E., Ranka R., Baumanis V. Tick-borne encephalitis — pathogen, vectors and epidemiological situation in Latvia 2002–2003. *Acta Univers. Latv.*, 2004, vol. 676, pp. 27–37.
5. Bugmyrin S., Bespyatova L., Korotkov Y., Burenkova L., Belova O., Romanova L., Kozlovskaya L., Karganova G., Ieshko E. Distribution of Ixodes ricinus and I. persulcatus ticks in southern Karelia (Russia). *Ticks Tick Borne Dis.*, 2013, vol. 4, iss. 1–2, pp. 57–62. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.07.004
6. Ereemeeva M.E., Oliveira A., Moriarity J., Robinson J.B., Tokarevich N.K., Antyukova L.P., Pyanyh V.A., Emeljanova O.N., Ignatjeva V.N., Buzinov R., Pyankova V., Dasch G.A. Detection and identification of bacterial agents in Ixodes persulcatus Schulze ticks from the north western region of Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2007, vol. 7, pp. 426–436.
7. Hubalek Z., Halouzka J. Distribution of Borrelia burgdorferi sensu lato genomic groups in Europe. *Eur. J. Epidemiol.*, 1997, vol. 13, iss. 8, pp. 951–957. doi: 10.1023/A:1007426304900
8. Jaaskelainen A., Sironen T., Murueva G., Subbotina N., Alekseev A., Castran J., Alitalo I., Vaheri A., Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus in ticks in Finland, Russian Karelia and Buryatia. *J. Gen. Virol.*, 2010, vol. 91, no. 11, pp. 2706–2712. doi: 10.1099/vir.0.023663-0
9. Jaaskelainen A., Tonteri E., Sironen T., Pakarinen L., Vaheri A., Vapalahti O. European subtype tick-borne encephalitis virus in Ixodes persulcatus ticks. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, no. 2, pp. 323–325. doi: 10.3201/eid1702.101487
10. Katargina O., Russakova S., Geller J., Kondrusik M., Zajkowska J., Zygotiene M., Bormane A., Trofimova J., Golovljova I. Detection and characterization of tick-borne encephalitis virus in Baltic countries and eastern Poland. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 5:e61374. doi: 10.1371/journal.pone.0061374
11. Katargina O., Geller J., Ivanova A., Varv K., Tefanova V., Vene S. Detection and identification of Rickettsia species in Ixodes tick populations from Estonia. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2015, vol. 6, iss. 6, pp. 689–694. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.06.001
12. Kim C., Yi Y., Yu D., Lee M., Cho M., Desai A., Shringi S., Klein T., Kim H., Song J., Baek L., Chong S., O'Guinn M., Lee J., Lee I., Park J., Foley J., Chae J. Tick-borne rickettsial pathogens in ticks and small mammals in Korea. *Appl. Envir. Microbiol.*, 2006, vol. 72, no. 9, pp. 5766–5776. doi: 10.1128/AEM.00431-06
13. Korenberg E., Kovalevskii Y., Levin M., Shchyogoleva T. The prevalence of Borrelia burgdorferi sensu lato in Ixodes persulcatus and I. ricinus ticks in the zone of their sympatry. *Folia Parasitol.*, 2001, vol. 48, pp. 63–68.
14. Lindblom A., Wallmenius K., Sjowall J., Fryland L., Lindgren P., Forsberg P., Nollsson K. Prevalence of Rickettsia sp. in ticks and serological and clinical outcomes in tick-bitten individuals in Sweden and on the Aland islands. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 11: e0166653. doi: 10.1371/journal.pone.0166653
15. Sormunen J., Klemola T., Vesterinen E., Vuorinen I., Hytonen J., Hanninen J., Ruohomaki K., Saaksjarvi I., Tonteri E., Penttinen R. Assessing the abundance, seasonal questing activity and tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalence of Ixodes ricinus ticks in a Lyme borreliosis endemic area in Southwest Finland. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2016, vol. 7, iss. 1, pp. 208–215. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.10.011
16. Tokarevich N., Tronin A., Gnativ B., Revich B., Blinova O., Evengard B. Impact of air temperature variations on the ixodid ticks habitat and tick-borne encephalitis incidence in the Russian Arctic: the case of Komi Republic. *Int. J. Circumpolar. Health*, 2017, vol. 76, iss. 1: 1298882. doi: 10.1080/22423982.2017.1298882
17. Wallmenius K., Pettersson J., Jaenson T., Nilsson K. Prevalence of Rickettsia sp., Anaplasma phagocytophilum and Coxiella burnetii in adult Ixodes ricinus ticks from 29 study areas in central and southern Sweden. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2012, vol. 3, iss. 2, pp. 100–106. doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.11.003

**Авторы:**

**Панферова Ю.А.**, младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Суворова М.А.**, генеральный директор ООО «Эксплана», Санкт-Петербург, Россия;

**Шапарь А.О.**, зав. отделом паразитологии, Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора г. Санкт-Петербурга, Санкт-Петербург, Россия;

**Токаревич Н.К.**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией зооантропонозных инфекций, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Panferova Yu.A.**, Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Suvorova M.A.**, General Manager, Explana JSC, St. Petersburg, Russian Federation;

**Shapar A.O.**, Head of Parasitological Department, Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, St. Petersburg, Russian Federation;

**Tokarevich N.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Epidemiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.02.2018  
Отправлена на доработку 16.03.2018  
Принята к печати 26.03.2018

Received 06.02.2018  
Revision received 16.03.2018  
Accepted 26.03.2018