

ВОЗБУДИТЕЛИ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА, В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ, ОТЛОВЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Князева О.Р., Красько А.Г., Полещук Н.Н.

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
г. Минск, Республика Беларусь*

*Клещи являются основными переносчиками природно-очаговых трансмиссивных инфекций на территории республики Беларусь и представляют серьезную угрозу для здоровья человека и животных. Целью данной работы являлось оценить уровень инфицирования иксодовых клещей, из различных регионов Республики Беларусь патогенами, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, вирусом клещевого энцефалита (*Flavivirus*) и *Rickettsia spp.* В результате исследований, нами показана долговременная циркуляция патогенов для человека боррелий, вируса клещевого энцефалита и риккетсий в клещах, собранных в природных очагах Республики Беларусь. Высокий процент инфицированности клещей (*Borrelia burgdorferi sensu lato* (31,45%), и *Rickettsia spp.* (33,69%), РНК вируса клещевого энцефалита (11,54%), их широкое распространение на всей территории страны, увеличивает риск заболевания людей болезнью Лайма, риккетсиозами и клещевым энцефалитом, и обуславливает необходимость проведения противоэпидемических и акарицидных мероприятий.*

Ключевые слова: индикация; *Borrelia burgdorferi sensu lato*; вирус клещевого энцефалита; *Rickettsia spp.*; ПЦР.

TRANSMISSIVE AGENTS OF HUMAN DISEASES, IN IXODID TICKS COLLECTED ON THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELARUS

Kniazeva V, Krasko A, Poleshchuk N

*Republican Research & Practical Center for Epidemiology & Microbiology
Belarus, Minsk*

*Ticks are the main transmitters of natural focal vector-borne infections on the territory of the Republic of Belarus and pose a serious threat to human and animal health. The aim of this study was to evaluate the level of infection of ixodid ticks from various regions of the Republic of Belarus with *Borrelia burgdorferi sensu lato*, tick-borne encephalitis virus (*Flavivirus*) and *Rickettsia spp.* pathogens. We have shown the long-term circulation of *Borrelia*, tick-borne encephalitis virus and *Rickettsia* spp. in ticks collected in natural foci of the Republic of Belarus. A high percentage of infected ticks (*Borrelia burgdorferi sensu lato* (31,45%), *Rickettsia spp.* (33,69%), tick-borne encephalitis virus RNA (11,54%)) and their widespread*

throughout the country increases the risk of disease people with Lyme disease, rickettsioses and tick-borne encephalitis, and necessitates antiepidemic and acaricidal measures.

Key words: indication; *Borrelia burgdorferi* sensu lato; tick-borne encephalitis virus; *Rickettsia* spp.; PCR

Клещи признаны наиболее значимыми переносчиками патогенных микроорганизмов, представляющих серьезную угрозу для здоровья человека и животных и вторыми по значимости переносчиками трансмиссивных инфекций человека после комаров [1]. За последние 30 лет в мире были выделены и идентифицированы новые патогены, такие как *Borrelia burgdorferi* s.l., *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophylum*, *Ehrlichia chaffeensis*/ *Ehrlichia muris* и зафиксировано множество вспышек переносимых клещами заболеваний [2]. Их циркуляция поддерживается, как правило, в стабильных природных очагах, связанных с клещами, дикими и домашними животными, путем трансмиссивного механизма [3]. Питаясь на животных, в крови которых содержатся возбудители, иксодовые клещи – облигатные гематофаги – становятся их депо и переносчиками. Человек является случайным хозяином для этих микроорганизмов [4].

Целью данного исследования было оценить уровень инфицирования иксодовых клещей, из различных регионов Республики Беларусь патогенами, – *Borrelia burgdorferi* sensu lato, вирусом клещевого энцефалита (Flavivirus) и *Rickettsia* spp.

Материалы и методы: Клещи рода *Ixodes* были собраны флажковым методом в сезоны активности 2012-2018 г.г. на территории всех административных регионов Республики Беларусь. Определение видовой принадлежности клещей велось по таблицам Померанцева и Филипповой.

Каждого клеща сначала промывали в 70% спирте, затем в стерильном фосфатно-солевом буфере, высушивали стерильной фильтровальной бумагой для того, чтобы избежать загрязнения. Клещей гомогенизировали в 150 мкл фосфатно-солевого буфера. Выделение ДНК-РНК проводили с помощью комплекта реагентов Рибо-преп (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкциями изготовителя. к-ДНК получали с использованием набора Реверта-L (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Клещи были проанализированы на наличие вируса клещевого энцефалита, боррелий и риккетсий с использованием набора реагентов для выявления РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® TBEV, *B.burgdorferi* s.l., *A.phagocytophillum*, *E.chaffeensis*/*E.muris*-FL», или аналогичным набором, BelarTBD-PCR/RT®, производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, в соответствии с инструкцией производителей. Выявление *Rickettsia* spp. осуществляли путем

полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, согласно стандартному протоколу [5], с использованием праймеров, CS-F (5'-TCG CAA ATG TTC ACG GТАСТТ Т-3'), CS-R (5'-TCG TGC АТТ ТСТ TTC САТ TGTG-3') и меченого праймера CS-P (5'-6-FAM-TGC ААТ АGC ААG ААС CGT АGG СТG GAT G-BHQ-1-3'), соответствующих фрагменту гена цитратсинтазы (*gltA*).

Результаты и обсуждения: В период 2012-2018 гг. было исследовано 3797 клещей *Ixodes ricinus* и *Dermacenter reticulatus*, собранных в природных очагах в сезоны активности (635 клещей в 2012 г.; 576 – в 2013г.; 469 – в 2014 г; 750 – в 2015 г; 552 – в 2016 г.; 504 – в 2017 г.; 311 – в 2018 г.). Выделенные из суспензий клещей образцы суммарной ДНК и РНК были подвергнуты реакции ПЦР и ОТ-ПЦР, с помощью набора «АмплиСенс® TBEV, *B.burgdorferi* s.l., *A.phagocytophillum*, *E.chaffeensis/E.muris*-FL», или BelarTBD-PCR/RT® и с использованием стандартного протокола, для выявления риккетсий с набором праймеров, соответствующих фрагменту гена цитратсинтазы (*gltA*), который характеризуется низкой изменчивостью для ряда видов риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок.

Было установлено, что клещи, отловленные на территории Республики Беларусь инфицированы всеми тремя исследуемыми патогенами (табл. 1-3). Инфицированность клещей *Borrelia burgdorferi* s.l. в различных регионах страны варьировала (табл. 1), а средний процент клещей из которых были выделены боррелии в период 2012-2018 гг. составил 31,45%. Средняя доля членистоногих, инфицированных вирусом клещевого энцефалита составила 11,54% (табл. 2).

Средний процент инфицированных риккетсиями клещей составил 33,69% (табл. 3.).

Таблица 1. Инфицированность (%) иксодовых клещей, *Borrelia burgdorferi* s.l. в сезоны активности 2012 -2018 гг.

Места сбора клещей	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.l.,%						
	2012 г.	2013 г.	2014г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.
Брестская	44,4	35,29	63,4	47,9	28,8	51,4	34,4
Витебская	40,77	27,5	7,8	54	57,1	36,1	38,5
Гомельская	25,4	26,21	29,4	8,1	47,2	29,2	16,7
Гродненская	41,79	20,18	33,3	29,2	25,5	20,8	39,3
Минская	26,92	35,82	50	36,5	21,2	27,8	40,7
Могилевская	19,51	28,57	21,8	1,5	21,8	19,4	36,7
Всего по Республике	29,67	29,69	31,5	33,2	29,7	31	35,4

Таблица 2. Инфицированность (%) иксодовых клещей, вирусом клещевого энцефалита в сезоны активности 2012-2018 гг.

Места сбора клещей	Вирус клещевого энцефалита,%						
	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.
Брестская	12,92	18,38	19,5	1,7	9,9	15,3	6,3
Витебская	6,15	5	7,8	2	11,4	22,2	20,5
Гомельская	15,87	17,48	3,9	2	2,8	26,4	8,3
Гродненская	5,9	17,54	33,3	н\о	8,5	12,5	7,1
Минская	12,96	28,36	14,3	1,9	15,8	9,7	20,6
Могилевская	9,76	22,45	12,1	н\о	9,1	23,6	1,7
Всего по Республике	9,76	19,79	15,01	1,6	9,4	16,5	8,7

Таблица 3. Инфицированность (%) иксодовых клещей, *Rickettsia* spp. в сезоны активности 2012 -2018 гг.

Места сбора клещей	<i>Rickettsia</i> spp.,%						
	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.
Брестская	40,98	58,09	26,8	36,8	44,1	19,4	31,2
Витебская	29,95	65	56,9	24,8	50	47,2	15,4
Гомельская	13,89	23,3	45,1	8,1	42,1	31,9	13,9
Гродненская	11,1	50,88	55,6	37,5	48,9	50	12,5
Минская	15,56	58,21	46,4	26,9	35,6	18,1	18,5
Могилевская	н\о	53,06	29,9	20,3	30,9	26,4	41,7
Всего по Республике	27,08	50,52	41,01	28,7	29,7	33,7	25,1

Таким образом, нами показана долговременная циркуляция патогенных для человека боррелий, вируса клещевого энцефалита и риккетсий в клещах, собранных в природных очагах Республики Беларусь. Высокий процент инфицированности клещей, их распространение на всей территории страны, увеличивает риск заболевания людей болезнью Лайма, риккетсиозами и клещевым энцефалитом, и обуславливает необходимость проведения противоэпидемических и акарицидных мероприятий.

С открытием новых патогенов, в результате развития молекулярных методов диагностики получены дополнительные эпидемиологические и экологические данные относительно клещевых заболеваний [6]. Наибольшую опасность из которых для человека представляют болезнь Лайма и клещевой энцефалит.

Болезнь Лайма – системное воспалительное заболевание, вызываемое патогенными спирохетами, относящимися к комплексу *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Эти бактерии передаются преимущественно клещами рода *Ixodes* - I.

ricinus в Европе и *I. scapularis* в Северной Америке. Несмотря на крупные экономические вложения в ее изучение, болезнь Лайма по-прежнему является наиболее распространенным трансмиссивным заболеванием в умеренных экотонах Голарктики. Недавние исследования показывают, что ежегодное число случаев болезни Лайма в США было недооценено примерно в 10 раз (т.е. 300 000 вместо 30 000 случаев в год). Аналогичным образом, по оценкам, во

Франции происходит более 26 000 случаев в год, и ежегодно в Европе диагностируется приблизительно 65 500 случаев.

В Республике Беларусь согласно данным официальной статистики заболеваемость болезнью Лайма увеличилась с 8.81 случаев/100 тысяч населения в 2009 году до 21.6 случаев/100 тысяч населения в 2018 году. Истинная частота заболевания, вероятно, недооценена из-за вариабильности в симптоматических диагнозах, недостаточной надежности диагностических тестов и ограниченной эффективности лечения [7]. Какова бы ни была реальная оценка, тот факт, что ежегодно в Северном полушарии сообщается о десятках тысяч случаев болезни Лайма, подчеркивает необходимость новых профилактических мер с учетом того, что вакцины разрешенной к применению у людей не существует, и нынешняя диагностика и лечение ее хронических форм затруднены.

Вторым основным заболеванием, имеющим медицинское значение, является клещевой энцефалит, представляющий собой зооноз, вызванный вирусом клещевого энцефалита, принадлежащим к группе клещевых флавивирусов, семейство Flaviviridae, род Flavivirus. Это наиболее важный передаваемый клещами арбовирус в Евразии. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) является эндемичным заболеванием в зоне, простирающейся от центральной и восточной Европы до Сибири и Японии, что соответствует распространению иксодовых клещей *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus*, которые действуют как переносчики и резервуары ВКЭ. В течение последних нескольких десятилетий наблюдается тенденция распространения ВКЭ в ранее не эндемичные регионы. Он был обнаружен не только в более северных районах, таких как Дания и Норвегия, но и на больших высотах, включая горы Крконоше в Чешской Республике и Австрийские Альпы [8]. Также отмечено увеличение числа зарегистрированных случаев во многих эндемичных районах, что, как полагают, является результатом сложного взаимодействия социальных и экологических факторов [9].

Клещевой риккетсиоз, вызываемый микроорганизмами семейства *Rickettsiaceae*, наряду с болезнью Лайма и клещевым энцефалитом, входит в тройку наиболее значимых трансмиссивных инфекций, переносимых клещами. Материалы официальной статистики стран Западной Европы и Российской Федерации свидетельствуют о многократном росте заболеваемости клещевым риккетсиозом в последние два десятилетия. В то время как на территории

Республики Беларусь регистрируются лишь единичные случаи заболеваний риккетсиозом, что требует дополнительного изучения [10, 11].

В этом контексте точная информация о зараженности клещей, обитающих на территории Республики Беларусь, сведения об их пространственном распределении и рисках воздействия имеет первостепенное значение для общественного здравоохранения. Обладая этими знаниями, общественность может избегать зон повышенного риска и знать об эпидемических рисках. Эта информация также должна насторожить медицинское сообщество и способствовать дифференциальной диагностике инфекционных заболеваний.

Список литературы

1. Балашов, Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций / Ю.С. Балашов // СПб.: Наука – 1998. – 287 с.
2. Parola, P. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat / P. Parola, D. Raoult // Clin. Infect. Dis. – 32 (2001). – P. 897-928.
3. Nicholson, W.L. Ticks (Ixodida) / W.L. Nicholson [et al.]. – Medical and Veterinary Entomology. – 2nd ed., Elsevier. – London. – 2009. – P. 493-542.
4. Князева, О.Р. Эпидемиологическая ситуация по Лайм-боррелиозу на территории Республики Беларусь в 2011-2013 гг. / О.Р. Князева, А.Г. Красько // Проблемы медицинской микологии – Спб., 2014. – Т.16 – №2. – С.86.
5. Stenos, J. A highly sensitive and specific real-time PCR assay for the detection of spotted fever and typhus group Rickettsiae / J Stenos, S.R. Graves, N.B. Unsworth // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2005. – 73: 1083D1085.
6. Piesman, J. Lyme borreliosis in Europe and North America / J. Piesman, L. Gern // Parasitology. – 2004. – Volume 129. – Issue S1.
7. Stricker, R.B. Lyme disease: the promise of Big Data, companion diagnostics and precision medicine/ R.B. Stricker, L. Johnson // J. Infect Drug Resist. 2016. – 9. Published 2016 Sep 13. doi:10.2147/IDR.S114770. – P.215-219.
8. Biernat, B. Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) RNA in Dermacentor reticulatus ticks from natural and urban environment / B. Biernat [et al.]. – Poland- Exp Appl Acarol (2014) 64. – P.543.
9. Stefanoff, P Virus detection in questing ticks is not a sensitive indicator for risk assessment of tick-borne encephalitis in humans/ P Stefanoff [et al.] // J. Zoonoses Public Health . – 2003. – 60(3): 215-226.
10. Dautel, H. Evidence for an increased geographical distribution of Dermacentor reticulatus in Germany and detection of Rickettsia sp. RpA4. / H. Dautel [et al.] // Int J. Med Microbiol. 2006. – P. 296.
11. Рудаков, Н.В. Клещевой риккетсиоз и риккетсии группы клещевой пятнистой лихорадки в России / Н.В. Рудаков [и др.]. – Омск: ИЦ «Омский научный вестник». – 2011. – 232 с.