

УДК 576.895.42

ИЗОЛЯЦИЯ БОРРЕЛИЙ ОТ КЛЕЩА *IXODES TRIANGULICEPS*
(IXODIDAE) И ВОЗМОЖНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭТОГО ВИДА
В ЭПИЗООТОЛОГИИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ

© Н. Б. Горелова, Э. И. Коренберг, Ю. В. Ковалевский,
Д. Постик, Г. Барантон

Приведены данные бактериологического исследования *Ixodes trianguliceps*, собранных с мелких млекопитающих в южнотаежных лесах Приуралья. Впервые от клещей этого вида получены изоляты спирохет. Их идентификация, проведенная с использованием комплекса молекулярно-генетических методов, показала принадлежность спирохет к *Borellia garinii* – возбудителю одного из иксодовых клещей боррелиозов.

Ixodes (Exorhynchus) trianguliceps Vir. – треххозяинный клещ с примитивным пастбищным типом паразитизма, все фазы которого прокармливают преимущественно мелкие млекопитающие (Филиппова, 1977). Это один из наиболее распространенных в Евразии иксодовых клещей. Его ареал охватывает значительную часть лесной зоны Европы от Британских о-вов до Урала, а далее на восток простирается до Забайкалья; отмечен также в лесах Крыма и Кавказа (Korenberg, Lebedeva, 1969; Филиппова, 1977; Колонин, 1981). *I. trianguliceps* наиболее тесно связан с южной и средней тайгой, но обитает также в хвойно-широколиственных и широколиственных равнинных и горных лесах; заходит в северную тайгу и лесостепь (Korenberg, Lebedeva, 1969). От клещей этого вида изолированы возбудители клещевого энцефалита (Малюшина, Катин, 1965) и Курикетсиоза (Пчелкина и др., 1975). Его рассматривают как важное звено эпизоотического процесса в ряде очагов туляремии (Олсуфьев, Дунаева, 1970) и бабезиоза (Hussein, 1980).

I. trianguliceps отмечен на значительной части евроазиатской области распространения иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), представляющих группу этиологически самостоятельных заболеваний (Korenberg, 1994), более известную пока под общим названием болезнь Лайма. За исключением самой северной периферии своего ареала, *I. trianguliceps* обитает совместно с основными переносчиками возбудителей этих заболеваний: клещами *I. persulcatus* и (или) *I. ricinus*. Известные попытки изоляции боррелий от небольших партий *I. trianguliceps* из западноевропейских очагов ИКБ были безуспешными (Krampitz, 1986). В настоящем сообщении приведены первые результаты бактериологического исследования *I. trianguliceps* из природных очагов этих заболеваний на территории России.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа представляет собой фрагмент комплексного изучения природных очагов ИКБ южнотаежных лесов Приуралья (Чусовской р-н Пермской обл.), где основной переносчик боррелий – таежный клещ (*I. persulcatus*). Эти очаги весьма активны: боррелиями инфицировано до 36–51 % голодных взрослых *I. persulcatus* и до 48 % обследованных мышевидных грызунов (Gorelova e. a., 1995).

Клещей собирали с мелких млекопитающих, пойманных живоловками в июле–начале августа 1994 г. во всех основных биотопах лесного массива площадью около 25 кв. м. Линии живоловок проверяли дважды в сутки. Пойманных зверьков усыпляли эфиром и проводили сбор клещей с них общепринятым способом (Жмаева и др., 1964).

В общей сложности осмотрели 296 зверьков: 231 рыжую (*Clethrionomys glareolus*), 7 красных (*Cl. rutilus*) и 3 темных (*Microtus agrestis*) полевки, 20 полевко-экономок (*M. oeconomus*), 25 лесных мышей (*Apodemus sylvaticus*) и 10 землероек-бурозубок (*Sorex* sp.). Обнаружен 301 иксодовый клещ; в том числе 49 *I. trianguliceps*. Для изоляции боррелий индивидуально исследованы 42 клеща этого вида.

У личинок асептически удаляли гнатосому и конечности, а тело клеща помещали в герметично закрывающуюся пластиковую пробирку с 2 мл среды BSK-2 без антибиотиков. При исследовании нимф и имаго для посева использовали комплекс внутренних органов, отпрепарированный от покровов тела. Материал инкубировали при 32° 2 мес. Наличие боррелий в посевах контролировали темнопольной микроскопией с двухнедельным интервалом. Полученные изоляты идентифицировали, используя комплекс молекулярно-генетических методов, в основе которого лежит анализ полиморфизма длины фрагментов рестрикции (ПДФР) генома боррелий (Postic e. a., 1994).

РЕЗУЛЬТАТЫ

С мелких млекопитающих снято 29 личинок, 15 нимф и 5 самок *I. trianguliceps*, находящихся в разных стадиях насыщения. Они составили 16.3 % от общего числа собранных иксодовых клещей. Остальные 83.7 % сборов составляли личинки и нимфы *I. persulcatus*. *I. trianguliceps* найден на 33 зверьках (11.1 % осмотренных особей) трех видов: рыжая и красная полевки, полевка-экономка. Суммарный индекс обилия всех фаз развития составил около 0.2. Несколько выше этот показатель для темнохвойных лесов, ниже – для мелколиственных и особенно мал – для мелколесий.

Боррелии выявлены в 4 из 42 посевов (9.5 %). Изоляты получены от нимф, снятых с трех рыжих и одной красной полевки. Зараженными оказались более четверти исследованных клещей этой фазы развития (см. таблицу). Один изолят получен от недавно прикрепившейся, практически голодной особи; три других – от поупитавшихся клещей. Бактериологическое исследование зверьков, с которых были сняты инфицированные нимфы дало отрицательный результат. В соответствии с ПДФР все 4 штамма от *I. trianguliceps* отнесены к *Borrelia garinii*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые спонтанная зараженность *I. trianguliceps* спирохетами *B. burgdorferi* s. lato доказана прямой изоляцией штаммов. Это согласуется с описанными ранее единичными случаями обнаружения боррелий у клещей данного вида путем микроскопии (Doby e. a., 1990; Gray, Kahl, 1993) и подтверждает предположение

Результаты изоляции боррелий от клещей *Ixodes trianguliceps*, снятых с мелких млекопитающих

Results of isolation of *Borrelia* from *Ixodes trianguliceps* tick, removed from small mammals

Фаза развития	Исследовано особей	Число клещей с боррелиями
Личинки	22	0
Нимфы	15	4
Имаго	5	0

о возможном участии *I. trianguliceps* в эпизоотическом процессе при ИКБ (Korenberg, 1994).

Все полученные от *I. trianguliceps* изоляты относятся к *B. garinii*. Таким образом, этот клещ дополнил список известных к настоящему времени переносчиков *B. garinii*, включающий *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. ovatus* (Postic, Baranton, 1994) и, по всей видимости, *I. uriae* (Assous e. a., 1994).

В очагах ИКБ Пермской обл., где были собраны *I. trianguliceps*, установлена циркуляция *B. garinii* и *B. afzelii* (Korenberg, e. a., 1994; Gorelova e. a., 1995). Сравнительно небольшое общее число исследованных нами клещей не исключает возможность выделения от *I. trianguliceps* спирохет *B. afzelii* в дальнейшем. Роль клещей *I. trianguliceps* в очагах ИКБ несомненно требует специального изучения. Наши данные дают возможность высказать лишь некоторые самые предварительные соображения.

I. trianguliceps не нападает на людей и соответственно его роль в очагах ИКБ может рассматриваться только в эпизоотическом плане: как возможное участие в циркуляции боррелий среди мелких млекопитающих. В качестве хозяев отдельных фаз жизненного цикла *I. trianguliceps* известно несколько десятков видов таких зверьков (Филиппова, 1977). В Приуралье этот клещ отмечен на 18 видах мышевидных грызунов и мелких насекомоядных. Причем ведущее значение в поддержании его популяций имеют рыжая полевка и обыкновенная бурозубка (*S. araneus*) (Суворова и др., 1969). Эти два зверька составляют основу населения мелких лесных млекопитающих Приуралья (Турикова, Korenberg, 1965) и являются важнейшими хозяевами не только *I. trianguliceps*, но и неполовозрелых *I. persulcatus* (Тупикова и др., 1980). Оба они известны как эффективные источники боррелий для кормящихся на них клещей и считаются важными сочленами паразитарных систем многих очагов ИКБ (Talleklint, Jaenson, 1994). От рыжей полевки в районе нашей работы уже изолировано большое число штаммов *B. garinii* и *B. afzelii*. Эти спирохеты выделены здесь и от ряда других прокормителей *I. trianguliceps* (Gorelova e. a., 1995).

Таким образом, в Приуралье *I. trianguliceps* имеет полную возможность наряду с *I. persulcatus* участвовать в поддержании процесса циркуляции боррелий в природных очагах. Судя по довольно высокой (около 25 %) доле инфицированных особей среди исследованных нами нимф, это происходит достаточно регулярно. Во всяком случае показатель зараженности нимф *I. trianguliceps* вполне соизмерим с зараженностью нимф *I. persulcatus*, составляющей в районе работ 13–31 % (Gorelova e. a., 1995). Список основных прокормителей *I. trianguliceps* в пределах его ареала однотипен. В различных регионах ими являются те же потенциальные носители боррелий, что и в Приуралье, либо близкие к ним виды зверьков (Филиппова,

1977). Поэтому контакт *I. trianguliceps* с боррелиями может осуществляться почти повсеместно. Так, их присутствие обнаружено путем микроскопии примерно у 10 % исследованных особей этого клеща, собранных с мелких млекопитающих во Франции (Doby e. a., 1990).

Поскольку все выявленные нами инфицированные нимфы были сняты со зверьков, бактериологическое исследование которых дало отрицательный результат, а одна из нимф к моменту исследования вообще едва приступила к питанию, можно предположить, что *I. trianguliceps* является хранителем боррелий, способным воспринимать их на стадии личинки и передавать по ходу метаморфоза.

В обследованном нами лесном массиве *I. trianguliceps* уступает по обилию основному переносчику боррелий – клещу *I. persulcatus*. Сходная ситуация обычно наблюдается и в других частях Приуралья (Шилова, 1959; Суворова и др., 1966, 1969; Ковалевский и др., 1980). Поэтому в таких ситуациях *I. trianguliceps*, видимо, следует рассматривать как заметное, но все же не первостепенное звено эпизоотического процесса в природных очагах ИКБ региона. Учитывая, что почти по всему ареалу *I. trianguliceps* суммарные индексы обилия всех фаз его развития даже на наиболее предпочитаемых хозяевах обычно не превышают 1–2 особи на зверька (Korenberg, Lebedeva, 1969), такая оценка, возможно, справедлива и для других регионов.

Благодарности: The research described in this publication was made possible in the part by Grant № N42000 from the International Science Foundation.

Список литературы

- Жмаева З. М., Земская А. А., Шлугер Е. Г. Кровососущие клещи (Arthropoda, Arachnoidea, Chelicerata) // Методы изучения природных очагов болезней человека. М., 1964. С. 68–89.
- Ковалевский Ю. В., Коренберг Э. И., Суворова Л. Г. Пространственная структура популяций клеща *Ixodes trianguliceps* и влияние на нее ДДТ // Зоол. журн. 1980. Т. 69, вып. 7. С. 1008–1017.
- Колонин Г. В. Мировое распространение иксодовых клещей (род *Ixodes*). М., 1981. 115 с.
- Малюшина Е. П., Катин А. А. О выделении вируса клещевого энцефалита из клещей *Ixodes trianguliceps* Bir. // Актуальные проблемы вирусных инфекций. М., 1965. С. 135–136.
- Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М., 1970. 272 с.
- Пчелкина А. А., Коренберг Э. И., Суворова Л. Г. и др. Изучение сочетанных очагов клещевого энцефалита и Ку-риккетсиоза на территории Удмуртии // Мед. паразитол. 1975. Т. 64, № 5. С. 541–545.
- Суворова Л. Г., Лебедева Н. Н., Коренберг Э. И. Распространение клеща *Ixodes trianguliceps* в Удмуртской АССР // Тез. докл. IV Межвузовской зоогеограф. конф. Одесса, 1966. С. 273–274.
- Суворова Л. Г., Тупикова Н. В., Зацарицина Г. В. Экология *Ixodes trianguliceps* Bir. в восточно-европейских южнотаежных лесах // Клещевой энцефалит в Удмуртии и прилегающих областях. Ижевск, 1969. С. 171–180.
- Тупикова Н. В., Суворова Л. Г., Коренберг Э. И. К оценке значения различных видов мелких млекопитающих в прокормлении личинок и нимф таежного клеща // Фауна и экология грызунов. Вып. 14. М., 1980. С. 158–176.
- Филиппова Н. А. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae : Паукообразные. М.; Л., 1977. 396 с. (Фауна СССР. Т. 4, вып. 4).
- Шилова С. А. Зоолого-паразитологическая характеристика очагов клещевого энцефалита Пермской области // Сб. научно-практич. работ Перм. санитарно-эпидемиологической станции. Пермь, 1959. Вып. 2. С. 16–23.
- Assous M., Postic D., Baranton G. Clinical and epidemiological implications of *Borrelia burgdorferi sensu lato* taxonomy // Present status of Lyme disease and biology of Lyme borrelia. Proc. Intern. Symp. on Lyme Disease in Japan. Kanazawa, Hamamatsu, Shizuoka, Japan, November 12, 1994. P. 148–162.

- Doby J. M., Bigaignon G., Launay H., Costil C., Lorvellec O. Presence de *Borrelia burgdorferi*, agent de spirochetoses a tiques, chez *Ixodes (Exopalgiger) trianguliceps* Birula, 1895 et *Ixodes (Ixodes) acuminatus* Neumann, 1901 (Acariens Ixodidae) et chez *Ctenophthalmus baeticus arvensis* Jordan, 1931 et *Megabothris turbidus* (Rothschild, 1909) (Insectes Siphonaptera), ectoparasites de micromammiferes des forests dans l'Quest de la France // Bull. Soc. Franc. Parasitol. 1990. T. 8, N 2. P. 311–322.
- Gorelova N. B., Korenberg E. I., Kovalevskii Yu. V., Shcherbakov S. V. Small mammals as reservoir hosts for *Borrelia* in Russia // Zbl. Bact. 1995. (in press).
- Gray J. S., Kahl O. The circulation of *Borrelia burgdorferi* between reservoir hosts and ticks in Western Europe // First Intern. Congr. of Vector ecology. San Diego, California, USA. October 3–8, 1993. Abst. 20.
- Korenberg E. I. Problems of epizootiology, epidemiology, and evolution associated with modern *Borrelia* taxonomy // Present status of Lyme disease and biology of Lyme borrelia. Proc. Intern. Symp. on Lyme Disease in Japan. Kanazaji, Hamamatsu, Shizuoka, Japan, November 12, 1994. P. 18–47.
- Korenberg E. I., Lebedeva N. N. Distribution and some general features of the ecology of *Ixodes trianguliceps* Bir. in the Soviet Union // Fol. parasitol. 1969. Vol. 16. P. 143–152.
- Korenberg E. I., Moskvitina G. G., Vorobyeva N. N. Prevention of human borreliosis after infected tick's bite // Advances in Lyme borreliosis research. Proc. VI Intern. Conf. on Lyme Borreliosis. Bologna, Italy, June 19–22, 1994. P. 209–211.
- Krampitz H. E. In vivo isolation and maintenance of some wild strains of European hard tick spirochetes in mammalian and arthropod hosts // Zbl. Bact. Hyg. A 263. 1986. P. 21–28.
- Postic D., Baranton G. Molecular fingerprinting and phylogeny of *Borrelia burgdorferi sensu lato* // Present status of Lyme disease and biology of Lyme borrelia. Proc. Intern. Symp. on Lyme Disease in Japan. Kanazaji, Hamamatsu, Shizuoka, Japan, November 12, 1994. P. 133–147.
- Postic D., Assous M. V., Grimont A. D., Baranton G. Diversity of *Borrelia burgdorferi sensu lato* evidenced by restriction fragment length polymorphism of *rrf* (5S) – *rrl* (23S) intergenetic spacer amplicons // Intern. J. System. Bact. 1994. Vol. 44.
- Talleklint L., Jaenson T. G. T. Transmission of *Borrelia burgdorferi* s. l. from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acary: Ixodidae) in Sweden // J. Med. Entomol. 1994. Vol. 31, N 6. P. 880–886.
- Tupikova N. V., Korenberg E. I. The effect of concentrated deforestation on certain components of natural focus of Tick-borne encephalitis in East-European parts of the southern taiga forests // Theoretical questions of natural foci of diseases. Prague, 1965. P. 319–324.
- Hussein H. S. *Ixodes trianguliceps*: seasonal abundance and role in the epidemiology of *Babesia microti* infection in north-western England // Ann. Trop. Med. Parasitol. 1980. Vol. 74. P. 531–539.

НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, Москва, 123098
Институт Пастера, Париж

Поступила 21.03.1995

ISOLATION OF BORRELIA FROM THE TICK *IXODES TRIANGULICEPS* (IXODIDAE)
AND THE SIGNIFICANCE OF THIS SPECIES IN EPIZOOTIOLOGY OF IXODID
TICK-BORNE BORRELIOSES

N. B. Gorelova, E. I. Korenberg, Yu. V. Kovalevskii, D. Postic, G. Baranton

Key words: *Ixodes trianguliceps*, *Borrelia*, epizootiology, ixodid tick-borne borrelioses.

SUMMARY

Ixodes trianguliceps is a common tick species of the Eurasian forest zone. These ticks live probably in natural foci of ixodid tick-borne borrelioses (ITBB) from Western Europe to Transbaikalia, but their role in circulation of corresponding pathogens remains unclear.

This study was performed in a natural ITBB focus located in the Perm region of Russia (near the Urals), where *Borrelia garinii* and *B. afzelii* circulate and *I. persulcatus* serves as their main vector. In July–August of 1994, 296 small mammals (mostly *Clethrionomys glareolus*) were tested for tick infestation. From these mammals, 49 *I. trianguliceps* and 252 *I. persulcatus* ticks were collected (16.3 and 83.7 %, respectively). *I. trianguliceps* ticks were found on 33 rodents of three species: *Cl. glareolus*, *Cl. rutilus*, and *Microtus oeconomus*. The abundance of *I. trianguliceps* (on average, less than 0.2 ticks per animal) was approximately five times lower than that of *I. persulcatus*.

I. trianguliceps larvae, nymphs, and adults (22, 15, and 5 specimens, respectively) were analyzed for *Borrelia* infection by plating their internal organs on the BSK-2 medium. Spirochete isolates were obtained from four nymphs. Three infected nymphs were collected from different *Cl. glareolus* specimens, and one was found on *Cl. rutilus*. According to the results of RFLP analysis, all four isolates were classified as *B. garinii*. This experiment is the first successful attempt to isolate one of ITBB pathogens from *I. trianguliceps* ticks.

These ticks do not attack people, and their role in ITBB foci should be analyzed only in terms of epizootiology. The results of previous zoological-parasitological and bacteriological studies performed in the Ural region suggest that *I. trianguliceps* and *I. persulcatus* populations are maintained there by the same species of small rodents and insectivores, which mostly belong to the genera *Clethrionomys* and *Sorex*. Many of them were identified as the reservoir hosts of *Borrelia*. These data, in complex with the fact of *B. garinii* isolation from *I. trianguliceps*, suggest that *I. trianguliceps* ticks are involved in the maintenance of *Borrelia* circulation in natural ITBB foci. Taking into account the low abundance of these ticks in the Ural forests, they should be regarded as an important but not principal component of the epizootic process. It is suggested that such a conclusion about the significance of *I. trianguliceps* ticks also pertains to ITBB foci of other regions.