



Генотипирование боррелий, риккетсий и анаплазм в клещах *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus* в Калининградской области

Карташов М.Ю.^{1,2}, Волчев Е.Г.³, Кривошеина Е.И.¹, Свирин К.А.¹,
Терновой В.А.¹, Локтев В.Б.^{1,2,4}✉

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Россия;

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия;

³Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия;

⁴Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Аннотация

Актуальность. Возбудители клещевых инфекций бактериальной и протозойной природы представляют существенную проблему для общественного здравоохранения.

Цель исследования состояла в детекции и генотипировании боррелий, риккетсий и анаплазм в клещах *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus*, собранных на территории Калининградской области в 2021–2022 гг.

Материалы и методы. В исследование были включены 1665 клещей: *I. ricinus* ($n = 862$) и *D. reticulatus* ($n = 803$), собранных в 33 биотопах Калининградской области. Детекцию генетического материала клещевых патогенов проводили в индивидуальных клещах методом ПЦР с последующим секвенированием и филогенетическим анализом специфических последовательностей ДНК.

Результаты. Уровень инфицированности клещей *I. ricinus* боррелиями составил 15,5%, причём генотипирование по последовательности гена *p66* показало наличие ДНК боррелий четырех видов: *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana* и *B. lusitaniae*. В клещах *D. reticulatus* ДНК боррелий не выявлено. Генетический материал *Rickettsia* spp. был обнаружен в обоих видах клещей, причём уровень инфицированности клещей *I. ricinus* составил 2,6%, а *D. reticulatus* — 21,2%. В клещах *I. ricinus* обнаружены риккетсии *R. helvetica*, а в луговых клещах — *R. raoultii* при проведении их генотипирования по гену *gltA*. ДНК *Anaplasma phagocytophilum* были обнаружены как в клещах *I. ricinus*, так и в клещах *D. reticulatus*. Выявлены также случаи коинфицирования индивидуального клеща несколькими клещевыми патогенами.

Заключение. В клещах *I. ricinus* и *D. reticulatus*, собранных на территории Калининградской области, обнаружены 6 видов возбудителей клещевых инфекций бактериальной и протозойной природы, причём *R. helvetica*, *R. raoultii* и *A. phagocytophilum* были выявлены впервые.

Ключевые слова: иксодовые клещи, клещевые инфекции, боррелии, риккетсии, анаплазмы, генотипирование, филогенетический анализ, Калининградская область, Россия

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (ГЗ-7/21).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Карташов М.Ю., Волчев Е.Г., Кривошеина Е.И., Свирин К.А., Терновой В.А., Локтев В.Б. Генотипирование боррелий, риккетсий и анаплазм в клещах *Ixodes ricinus* и *Dermacentor reticulatus* в Калининградской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(2):227–236.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-503>

EDN: <https://www.elibrary.ru/pebbmх>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-503>

Genotyping of *Borrelia*, *Rickettsia* and *Anaplasma* in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks in the Kaliningrad region

Mikhail Yu. Kartashov^{1,2}, Evgenii G. Volchev³, Ekaterina I. Krivosheina¹, Kirill A. Svirin¹,
Vladimir A. Ternovoi¹, Valery B. Loktev^{1,2,4}✉

¹State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Rospotrebnadzor, Novosibirsk Region, Koltsovo, Russia;

²Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

³Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

⁴Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract

Background. Tick-borne bacterial and protozoal pathogens pose a significant public health problem. The aim of this study was to detect and genotype *Borrelia*, *Rickettsia* and *Anaplasma* in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected in the Kaliningrad region in 2021–2022.

Materials and methods. The study included 862 *I. ricinus* and 803 *D. reticulatus* ticks (1665 in total) collected in 33 biotopes of the Kaliningrad region. Detection of the DNA of tick-borne pathogens was carried out in individual ticks by PCR using a set of specific primers, followed by sequencing and phylogenetic analysis.

Results. The level of infection of *I. ricinus* ticks with *Borrelia* was 15.5%, and genotyping by the *p66* gene sequence showed the presence of genetic material from four species: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, and *B. lusitanae*. In *D. reticulatus* ticks, no *Borrelia* genetic material was detected. The *Rickettsia* DNA has been found in both tick species. Moreover, the infection rate of *I. ricinus* ticks was 2.6%, and *D. reticulatus* — 21.2%. *R. helvetica* were found in *I. ricinus* ticks, and *R. raoultii* in meadow ticks when genotyping by *gltA* gene. Genetic markers of *Anaplasma phagocytophilum* have been found in *I. ricinus* and *D. reticulatus* ticks. Cases of co-infection of an individual tick have also been identified.

Conclusion. Six different species of tick-borne pathogens were found in the *I. ricinus* and *D. reticulatus* ticks collected in the Kaliningrad region and *R. helvetica*, *R. raoultii* and *A. phagocytophilum* were identified for the first time.

Keywords: *ixodes ticks*, *tick-borne infections*, *Borrelia*, *Rickettsiae*, *Anaplasma*, *genotyping*, *phylogenetic analysis*, *Kaliningrad region*, *Russia*

Funding source. The study was carried out within the framework of the state assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR of Rosпотребнадзор (GZ-7/21).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kartashov M.Yu., Volchev E.G., Krivosheina E.I., Svirin K.A., Ternovoi V.A., Loktev V.B. Genotyping of *Borrelia*, *Rickettsia* and *Anaplasma* in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks in the Kaliningrad region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(2):227–236.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-503>

EDN: <https://www.elibrary.ru/pebbmx>

Введение

Клещи могут быть заражены патогенами вирусной, бактериальной и протозойной природы [1–3]. Помимо достаточно хорошо изученных патогенов, к которым можно отнести вирус клещевого энцефалита и возбудителей иксодового боррелиоза, в клещах могут присутствовать другие микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, в том числе и в европейских странах [2, 4–6]. Инфекции, переносимые клещами, являются распространённой группой зооантропонозных заболеваний в России [7, 8]. Структура и характеристика клещевых инфекций, включая генотипирование их возбудителей, на территории европейской части России изучены недостаточно [9]. В последние годы случаи клещевых инфекций человека ассоциируются с клещами *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930), *I. pavlovskyi* (Pomerantzev, 1946), *Dermacentor reticulatus* (Fabric, 1794), *D. marginatus* (Sulzer, 1776), *D. nuttali* (Olenov, 1928) в сибирских и дальневосточных регионах России [8, 10]. В европейской части России широко распространены клещи *I. ricinus* (Linnaeus, 1758), которые доминируют в западных регионах страны. Интересно, что появление клещей *D. reticulatus* отмечается в городских

и пригородных биотопах [8, 11]. Так, в Томске их численность возросла более чем в 200 раз для городских биотопов, а инфицированность клещей *D. reticulatus* составила приблизительно 44–48% для *Rickettsia* spp., 0,7–0,9% для вируса клещевого энцефалита и 0,6% для *Anaplasma phagocytophilum*.

Ранее в *I. ricinus* в Ленинградской и Калининградской областях методом ПЦР были предположительно обнаружены 4 вида боррелий при уровне инфицированности 11,5% [12]. Несколько позднее в парковых зонах Санкт-Петербурга на побережье Балтийского моря были обнаружены таёжные клещи (*I. persulcatus*) с уровнем инфицированности 9,3% боррелиями, генотипированными как *B. afzelii* и *B. garinii* [13]. В Финляндии уровень инфицированности *I. ricinus* и *I. persulcatus* различными клещевыми патогенами достигал 30% при значительном доминировании *Borrelia burgdorferi sensu lato* [14]. При этом клещи *I. ricinus* были существенно чаще инфицированы и коинфицированы различными бактериальными и протозойными патогенами.

В Калининградской области в 2022 г. из-за укусов клещей за медицинской помощью обратились

Праймеры, использованные для амплификации фрагментов генов боррелий, риккетсий и анаплазм из иксодовых клещей

Primers using for isolation gene fragments of *Borrelia*, *Rickettsia* and *Anaplasma* from ixodes ticks

Праймер Primer	Структура праймера (5'→3') Primer sequence (5'→3')	Температура Temperature, °C	Размер, п.н. Size, bp	Источник Reference
Borr2rF	CGAATTAGGCAAAGACGATCC	56	548	[8]
Borr2rR	TTTCATAAGCTCCTGATAAGCCA			
CS409d	CSTATGGCTATTATGCTTGC	56	769	[16]
RP1258n	ATTGCAAAAAGTACAGTGAACA			
MSP2-3f	CCAGCGTTTACGAAGATAAGAG	55	334	[17]
MSP2-3r	GCCCAGTAACAACATCATAAGC			

5379 человек¹. Ежегодно диагностируются только случаи вирусного клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза у пациентов, которые традиционно ассоциируются с клещами *I. ricinus*: в 2022 г. зарегистрировано 3 случая клещевого энцефалита и 49 случаев клещевого боррелиоза. Циркуляция других возбудителей клещевых инфекций и их видовой принадлежность не описаны.

Целью данного исследования являлось обнаружение, изучение видовой принадлежности и генотипирование боррелий, риккетсий и анаплазм, выявляемых в иксодовых клещах, собранных в различных биотопах Калининградской области.

Материалы и методы

Сбор клещей производили с растительности методом «на флаг» в различных биотопах Калининградской области в 2021–2022 гг. Географические координаты биотопов и количество собранных в биотопах клещей представлены в Приложении на сайте журнала. Видовая идентификация клещей осуществлялась морфологическим методом [15].

Выделение нуклеиновых кислот

Клещи были дважды обработаны 70% этанолом для инактивации инфекционных агентов и промыты фосфатно-солевым буфером. Гомогенизацию полученных образцов осуществляли с использованием лабораторного гомогенизатора «TissueLyserLT» («Qiagen») в 300 мкл стерильного физиологического раствора. Выделение проводили из 100 мкл гомогената с использованием набора реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп» («НекстБио») согласно инструкции производителя.

Проведение ПЦР

Скрининг полученных образцов на наличие генетических маркеров изучаемых патогенов

осуществляли с помощью ПЦР, используя специфические праймеры (таблица), на термоциклере «Т-1000» («Bio-Rad») в 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 10 мМ Трис-НСl (рН 9,0), 50 мМ КСl, 0,1% тритон X-100, 2 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого dNTP, по 0,25 мМ каждого праймера, 1,5 ед. активности HS-Taq-полимеразы («Евроген») и 1–100 нг ДНК-матрицы. При постановке ПЦР использовали следующие температурные режимы: предварительная активация полимеразы — 95°C в течение 5 мин; 38 циклов: 95°C — 20 с, T_{отжига} — 20 с, 72°C — 1 мин; финальная элонгация при 72°C — 4 мин.

Детекцию полученных ампликонов проводили методом гель-электрофореза в 2% агарозном геле в трис-ацетатном буфере, содержащем 0,1% бромида этидия. Продукты амплификации из агарозного геля очищали с использованием набора на основе микроколонок («Биосилика»).

Секвенирование и анализ нуклеотидных последовательностей

Секвенирование по Сэнгеру проводили с использованием набора «BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit» («Applied Biosystems»). Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли на основе капиллярного электрофореза с помощью автоматического секвенатора «3130xl Genetic Analyzer» («Applied Biosystems»). Анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы «UniproUGENE v. 1.46». Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с ранее опубликованными последовательностями в GenBank при помощи поискового приложения BLAST. Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма MUSCLE в программе «MEGA X». Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили методом максимального правдоподобия с использованием модели эволюции Tamura-Nei с целью анализа генетических взаимоотношений/кластеризации нуклеотидных последовательностей. Показатели ста-

¹ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Калининградской области в 2022 году». Калининград; 2023. 238 с. URL: https://39.rosпотребнадzor.ru/sites/default/files/doklad_o_goskontrole_za_2022_kaliningradskaya.pdf

тистической надёжности узлов филогенетического дерева рассчитаны с помощью бутстреп-анализа с использованием 1000 случайных реплик.

Депонирование нуклеотидных последовательностей

В базу данных GenBank были депонированы нуклеотидные последовательности: фрагменты гена *msp2* *A. phagocytophilum* (OR488786–OR488799); гена *p66* боррелий: *B. afzelii* (OR488840–OR488890), *B. garinii* (OR488891–OR488929), *B. valaisiana* (OR488930–OR488948), *B. lusitaniae* (OR488949–OR488967); фрагменты гена *gltA* риккетсий: *R. helvetica* (OR496610–OR496611) и *R. conorii* subsp. *raoultii*, далее, как базисом *R. raoultii* (OR496612–OR496613). Исследования проводили с соблюдением правил биобезопасности, регламентированных в МУ 1.3.2569–09, СП 1.3.3118–13, СП 3.1.3310–15.

Результаты

Проведён сбор и анализ 1665 индивидуальных образцов нимф и имаго иксодовых клещей видов *I. ricinus* ($n = 862$) и *D. reticulatus* ($n = 803$), собранных на территории 33 городских, пригородных и характерных природных биотопов Калининградской области (рис. 1). Исследованные биотопы подразделялись по видам клещей, собранных в них, следующим образом: 11 биотопов, в которых были отловлены только клещи *I. ricinus*, 9 биотопов — клещи *D. reticulatus* и 13 биотопов с 2 видами клещей. Совершенно необычно, что фактически половина всех собранных клещей была отнесена к луговому клещу, который был обнаружен в 2/3 исследованных биотопов и абсолютно доминировал в 9 из них.

Уровень инфицированности *I. ricinus* боррелиями составил 15,5% (128/862; 95% ДИ 13,2–18,1%). При определении нуклеотидной последовательности фрагмента гена *p66* длиной около 560 п.н. среди

128 образцов были выявлены боррелии четырех видов из комплекса *B. burgdorferi* s.l.: у 51 клеща выявлена ДНК *B. afzelii* (39,9%; 95% ДИ 31,8–48,5%), у 39 — *B. garinii* (30,5%; 95% ДИ 23,2–38,5%), у 19 — *B. valaisiana* (14,8%; 95% ДИ 9,7–22,0%), у 19 — *B. lusitaniae* (14,8%; 95% ДИ 9,7–22,0%). Среди изучаемых образцов клещей вида *D. reticulatus* генетического материала боррелий не выявлено. Филогенетический анализ показал, что боррелии, выявленные в клещах *I. ricinus* на территории Калининградской области, кластеризуются с прототипными изолятами, выделенными прежде всего в европейских странах (рис. 2). Анализ последовательности секвенированного фрагмента гена *p66* *B. afzelii* выявил 6 аллелей этого гена, для изолятов *B. garinii* обнаружено 8 аллельных вариантов, отличающихся друг от друга по 1–14 нуклеотидным заменам, а изоляты *B. valaisiana* и *B. lusitaniae* имели 2 и 4 замены.

Уровень инфицированности риккетсиями клещей составил 11,5% (191/1665; 95% ДИ 10,2–13,1%). Среди клещей вида *I. ricinus* ДНК риккетсий выявлена в 22 образцах, уровень инфицированности — 2,6% (22/862; 95% ДИ 1,7–3,8%). Все выявленные изоляты риккетсий из клещей *I. ricinus* по фрагменту гена цитратсинтазы (*gltA*) были отнесены к *R. helvetica*. При анализе нуклеотидных последовательностей гена *gltA* идентифицированы два основных геноварианта *R. helvetica*, циркулирующие в Калининградской области. Они отличаются друг от друга 2 синонимичными нуклеотидными заменами (уровень гомологии между геновариантами составляет 99,8%). Один из геновариантов соответствует описанным ранее вариантам *R. helvetica*, обнаруженным в Республике Коми и Омской области [9, 18], другой геновариант отличается от известных последовательностей.

В 21,1% клещей *D. reticulatus* обнаружена ДНК риккетсий (169/803; 95% ДИ 18,4–24,0%), которая была генотипирована как *R. raoultii*. Филогенетический анализ *R. raoultii* показал существование двух вариантов, отличающихся одной синонимичной заменой (рис. 3). В целом эти геноварианты соответствуют широкому кругу изолятов *R. raoultii*, циркулирующих в Европе, России и Китае [19, 20].

Методом ПЦР ДНК *A. phagocytophilum* была обнаружена в 12 исследованных образцах клещей вида *I. ricinus* (1,4%; 95% ДИ 0,8–2,5%) и в 2 образцах клещей вида *D. reticulatus* (0,2%; 95% ДИ 0,1–0,9%). У выявленных изолятов *A. phagocytophilum* проведено определение нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *msp2* длиной примерно 340 п.н. с последующим филогенетическим анализом (рис. 4). На территории Калининградской области обнаружены 3 геноварианта *A. phagocytophilum* с уровнем гомологии порядка 98,6%, тождественные либо наиболее близкие изолятам *A. phagocytophilum*, циркулирующим в Норвегии и Польше.

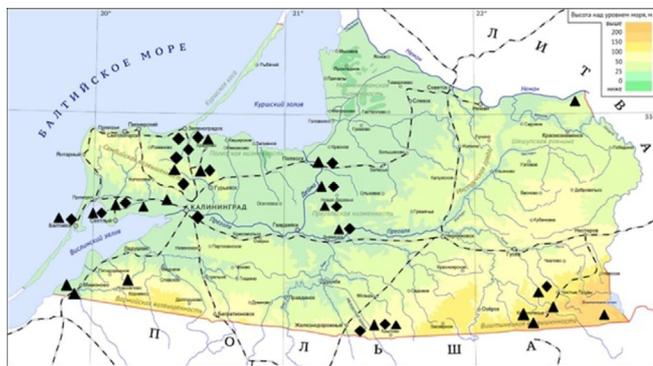


Рис. 1. Места расположения биотопов в Калининградской области, в которых проводился сбор иксодовых клещей в 2021–2022 гг.

Fig. 1. Locations of biotopes in the Kaliningrad region, where ixodid ticks were collected in 2021–2022.

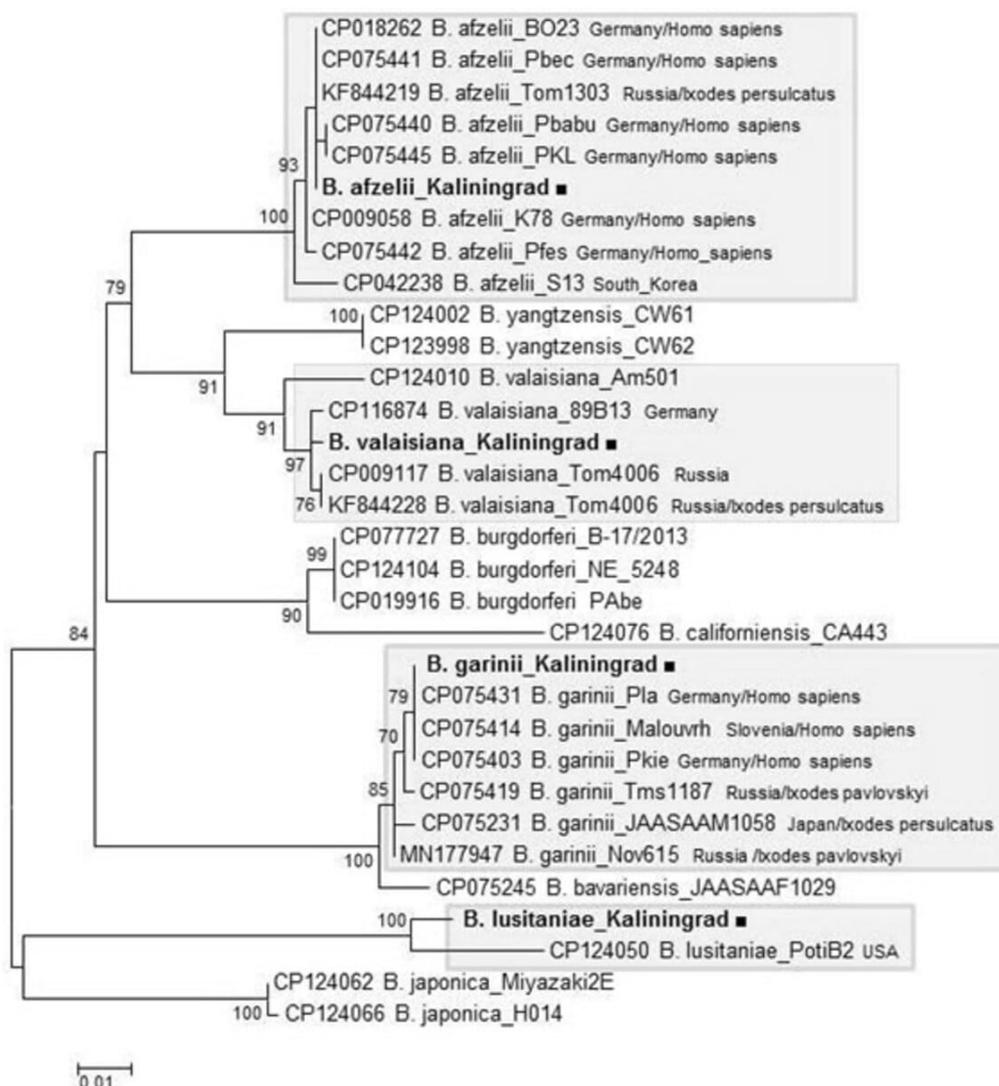


Рис. 2. Дендрограмма, построенная по нуклеотидной последовательности фрагмента гена *p66* для выявленных изолятов боррелий.

Последовательности, отмеченные чёрными квадратами, получены из клеща *I. ricinus*.

Fig. 2. Dendrogram of nucleotide sequences of the *p66* gene fragment for detected borrelia isolates.

Black squares — sequences derived from *I. ricinus* tick.

В 2 пробах клещей содержался одновременно генетический материал *B. afzelii* и *R. helvetica*, в 1 пробе клещей — ДНК *B. valaisiana* и *A. phagocytophilum*.

Обсуждение

Результаты регулярных многолетних полевых наблюдений показывают, что основные рекреационные ландшафты Калининградской области, включая ландшафты побережья Балтийского моря, имеют сформированные популяции иксодовых клещей. При этом активность иксодид в зонах с выраженной антропогенной нагрузкой существенно выше, чем в аналогичных ландшафтах с незначительной антропогенной нагрузкой. Так, в последние годы за медицинской помощью по поводу укусов клещей обращаются 4194–7300 человек. Ежегодно

диагностируется 2–16 случаев вирусного клещевого энцефалита и 35–132 случаев иксодового клещевого боррелиоза. Это многократно повышает риски контакта человека с иксодовыми клещами, что может привести к заражению человека возбудителями различных клещевых инфекций.

Клещевые боррелиозы занимают важное место в структуре инфекционной патологии в Калининградской области. В клещах Калининградской области нами были обнаружены и генотипированы *B. afzelii*, *B. garinii* и *B. lusitaniae*, которые считаются патогенными для человека, и *B. valaisiana*, патогенность которой обсуждается [21]. Уровень инфицированности (15,5%) соотносится с ранее проведёнными исследованиями на территории Ленинградской и Калининградской областей [12]. *B. afzelii* и *B. garinii* — наиболее распространённые

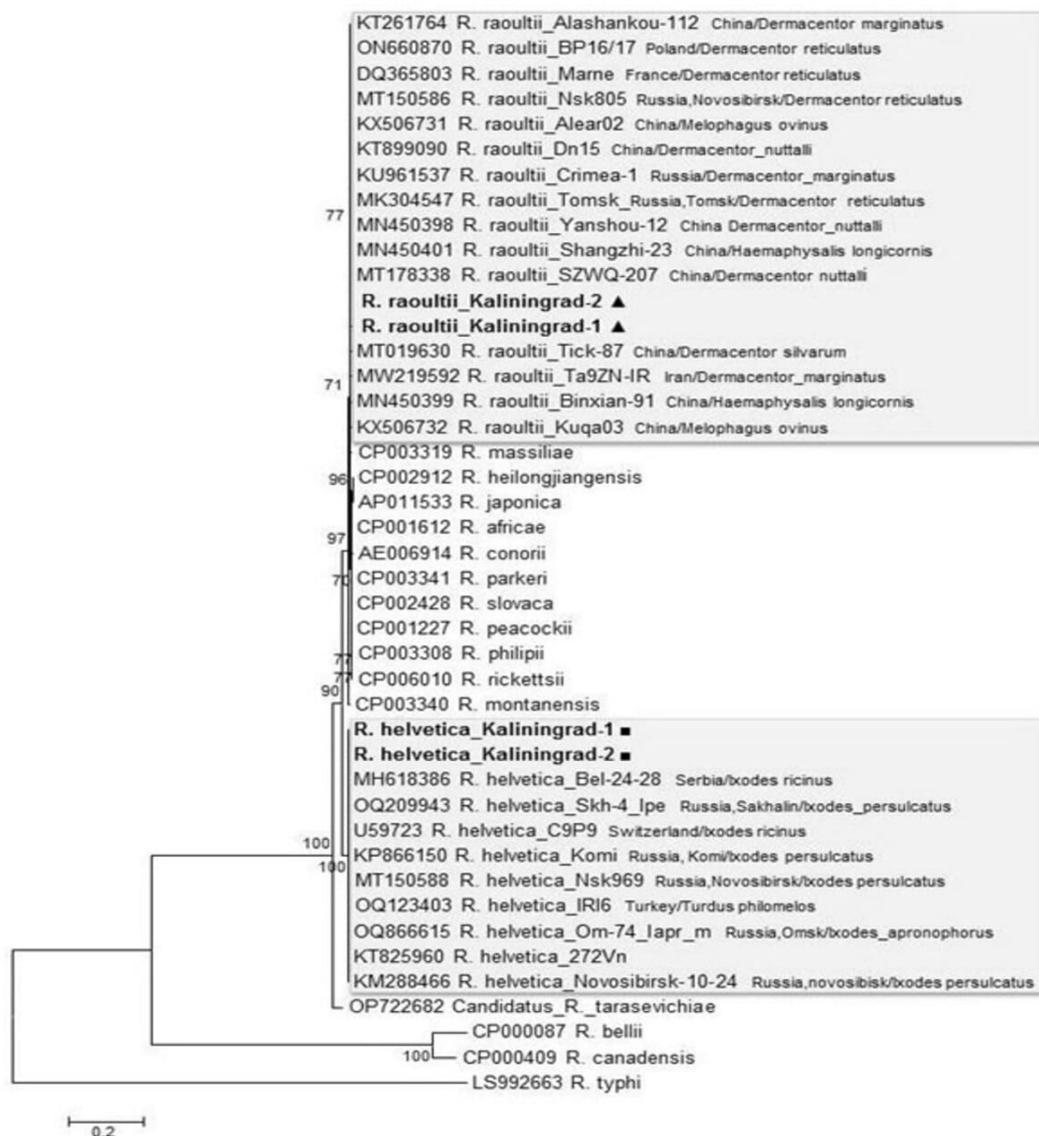


Рис. 3. Дендрограмма нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *gltA* выявленных изолятов риккетсий.

Чёрными треугольниками отмечены последовательности, полученные из клеща *D. reticulatus*, чёрными квадратами — из клеща *I. ricinus*.

Fig. 3. Dendrogram of nucleotide sequences of the *gltA* gene fragment for identified *Rickettsia* isolates. Black triangles — sequences derived from *D. reticulatus* tick; black squares — sequences derived from *I. ricinus* tick.

возбудители клещевого боррелиоза у человека и наиболее часто обнаруживаются в клещах *I. ricinus*. Впервые на территории Калининградской области показана циркуляция *B. lusitaniae*. Следует отметить, что *B. lusitaniae* в основном распространена в странах Средиземноморского региона, таких как Португалия, Марокко и Тунис. В более северных широтах данный патоген обнаруживался в Австрии, Словакии, Украине и Латвии [22].

В клещах *D. reticulatus* не удалось выявить генетических маркеров боррелиоза, хотя была исследована весьма представительная выборка клещей этого вида. Ранее аналогичная ситуация была зарегистрирована в Томске, где удалось индивидуально исследовать 315 клещей этого вида, собранных

в городских биотопах [11]. В Томских городских биотопах обнаружено более чем 200-кратное увеличение численности клещей *D. reticulatus* фактически в течение 2015 г. Именно взрывное нарастание численности *D. reticulatus* позволило собрать в 2016–2017 гг. значительное количество этих клещей и оценить их роль в передаче клещевых инфекций в Томске.

Риккетсии, переносимые иксодовыми клещами, являются инфекционными агентами, способными вызывать заболевание человека. На территории Калининградской области нам впервые удалось установить факт циркуляции двух видов риккетсий из группы клещевой пятнистой лихорадки: *R. helvetica* и *R. raoultii*. Зарегистрированный уровень инфи-

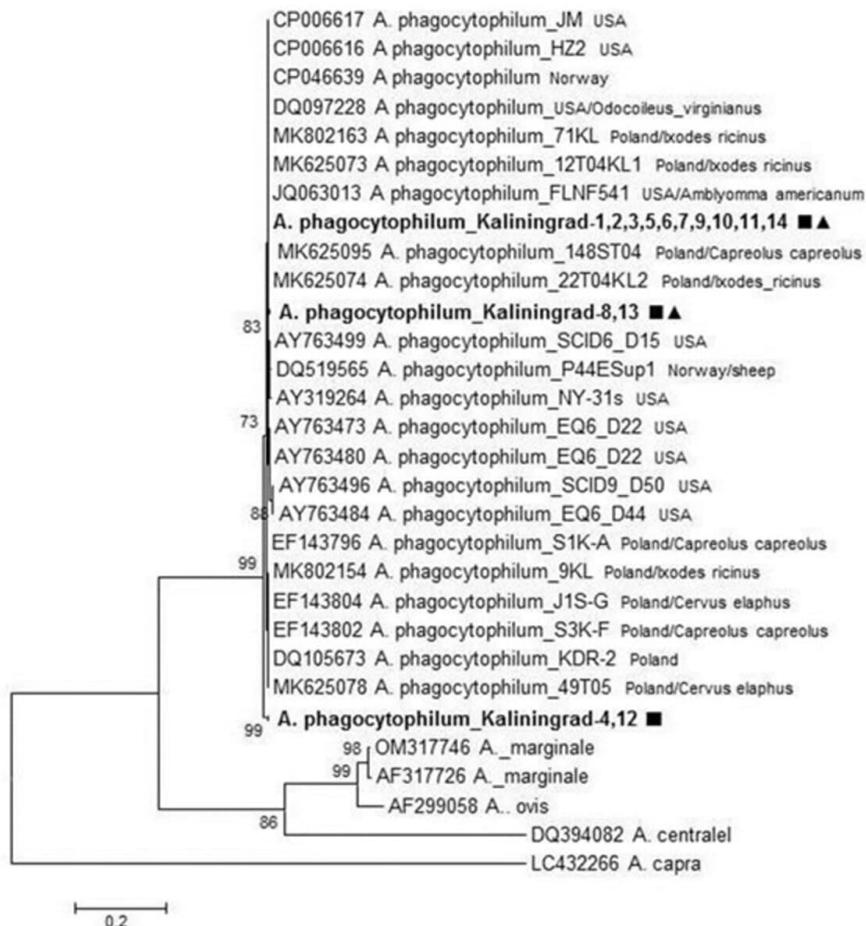


Рис. 4. Дендрограмма нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *msp2* выявленных изолятов *A. phagocytophilum*.

Чёрными треугольниками отмечены последовательности, полученные из клеща *D. reticulatus*, чёрными квадратами — из клеща *I. ricinus*.

Fig. 4. Dendrogram of nucleotide sequences of the *msp2* gene fragment for identified *A. phagocytophilum* isolates. Black triangles — sequences derived from *D. reticulatus* ticks; black squares — sequence derived from *I. ricinus* ticks

цированности *R. helvetica* клещей *I. ricinus* составил 2,6%. В других странах Балтийского региона он колеблется от 5 до 10% [23]. Однако клещи *D. reticulatus* были инфицированы *R. raoultii* в 21,2% случаев. При этом в Литве и Латвии аналогичный показатель достигает 38%, в Германии — 80% [24, 25]. На территории России уровень инфицированности *D. reticulatus* данным видом риккетсий может варьировать в различных регионах от 21,9% до 45%. ДНК *R. helvetica* была найдена у клещей *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pavlovskiyi* и *I. trianguliceps* в различных регионах северной Евразии [10, 26, 27]. Описаны случаи заболевания человека, при этом у пациентов с риккетсиозом, вызванным *R. helvetica*, наблюдалась лихорадка, редко появлялась сыпь, описаны случаи перимииокардита и менингита.

R. conorii subsp. *raoultii* была описана как новый вид риккетсий в 2008 г. после изучения прототипного штамма *R. raoultii* Kharbarovsk, выделенного в 2005 г. из клеща *D. silvarum* в Хабаров-

ском крае [28]. В последующих исследованиях *R. raoultii* была обнаружена у клещей *D. reticulatus*, *D. marginatus* и *D. nuttalli* в ряде регионов азиатской части России (Омская область, Республика Бурятия), в Казахстане, в Китае и Монголии [19, 20]. Риккетсии, генетически близкие *R. raoultii*, выявлены в клещах *Haemaphysalis hystricis* в Японии и в клещах *H. ornithophila*, *H. shimoga*, *H. lagrangei* в Таиланде, а также в клещах *D. marginatus* в Грузии, Турции и в европейских странах [29].

Серологическими методами и путём выявления ДНК в крови больных подтверждена роль *R. raoultii* наряду с *R. slovaca* в качестве этиологического агента синдрома TIBOLA, который ассоциируется с клещами рода *Dermacentor* spp. [30]. У больных развивается астенический синдром, в четверти случаев наблюдается лихорадка (> 38°C). У большинства пациентов эритема сохраняется до 1–2 мес. В случае локализации укуса клеща в волосяной части головы примерно у трети пациентов

развивается стойкое облысение в месте заживления укуса. При этом случаев заболевания риккетсиозами человека в Калининградской области пока не описано.

Впервые выявленный в работе факт наличия генетического материала *A. phagocytophilum* в клещах *I. ricinus* и *D. reticulatus* показывает активную циркуляцию данного возбудителя в Калининградской области. Уровень инфицированности клещей *D. reticulatus* и *I. ricinus* (0,2 и 1,4% соответственно) соотносится с аналогичными показателями для таких стран, как Дания, Швеция, Норвегия и Германия, где патоген обнаруживается в 1–5% иксодовых клещей [23]. Филогенетический анализ показывает одновременную циркуляцию не менее 3 геновариантов *A. phagocytophilum*. Заболевание гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ) впервые описано на Дальнем Востоке России ещё в 2000 г. Позднее подтверждённые случаи заболевания отмечены в Пермской, Новосибирской областях и на Алтае. Клиническое течение ГАЧ очень полиморфно: от лёгких, субклинических форм до крайне тяжёлых, летальных случаев, которые составляют 0,5–1,0% и обычно связаны с развитием вторичных инфекций. Для заболевания характерно появление головных и мышечных болей, развитие лихорадки. Менее чем у половины больных могут наблюдаться тошнота, рвота, анорексия, диарея, боли в брюшной области и суставах, кашель. В большинстве случаев у больных ГАЧ отмечают лейкопению, тромбоцитопению, а также повышенный уровень аминотрансфераз печени и С-реактивного белка в сыворотке крови. Заболевание ГАЧ на территории Калининградской области не зарегистрировано.

Высокий уровень инфицированности иксодовых клещей риккетсиями и анаплазмами в Калининградской области, наличие постоянных контактов населения с клещами позволяет ожидать появления случаев инфицирования людей риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки и анаплазмами. Диагностика этих заболеваний может быть затруднена из-за несовершенства их лабораторной диагностики. Эти инфекционные агенты не культивируются классическими микробиологическими методами, а генетический материал возбудителей можно обнаружить в клиническом материале от больных в очень узком временном диапазоне. Это актуализирует исследование по сероэпидемиологическому мониторингу данных инфекций у населения, проживающего в Калининградской области, для уточнения их распространения в настоящее время.

Заключение

В коллекции клещей *I. ricinus* и *D. reticulatus*, собранной в 33 различных биотопах в Калининградской области в 2021–2022 гг., обнаружена ДНК 6 различных видов возбудителей клещевых инфек-

ций бактериальной и протозойной природы. Секвенирование фрагментов геномов этих возбудителей, их филогенетический анализ позволили идентифицировать и генотипировать следующие виды возбудителей клещевых инфекций: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *R. helvetica*, *R. raoultii* и *A. phagocytophilum*. При этом *R. helvetica*, *R. raoultii* и *A. phagocytophilum* были выявлены впервые в данном регионе как в клещах *I. ricinus*, так и в клещах *D. reticulatus*. Полученные данные подтверждают необходимость постоянного мониторинга циркуляции возбудителей боррелиозов, риккетсиозов и анаплазмоза в природных очагах клещевых инфекций в Калининградской области, дальнейшего совершенствования методов диагностики и профилактики этих инфекций, включая выявление возможных случаев заболевания человека риккетсиозами и ГАЧ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Charrel R.N., Attoui H., Butenko A.M., et al. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004;10(12):1040–55. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01022.x>
- Defaye B., Moutailler S., Pasqualini V., Quilichini Y. A systematic review of the distribution of tick-borne pathogens in wild animals and their ticks in the mediterranean Rim between 2000 and 2021. *Microorganisms.* 2022;10(9):1858. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091858>
- Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., et al. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol.* 2023;8(1):162–73. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01275-w>
- Kiewra D., Krysmann A. Interactions between hard ticks (*Ixodidae*) and bacterial tick-borne pathogens. *Ann. Parasitol.* 2023;69(1):7–16. DOI: <https://doi.org/0.17420/ap6901.502>
- Hansford K.M., Wheeler B.W., Tschirren B., Medlock J.M. Questing *Ixodes ricinus* ticks and *Borrelia* spp. in urban green space across Europe: A review. *Zoonoses Public Health.* 2022;69(3):153–66. DOI: <https://doi.org/10.1111/zph.12913>
- Moraga-Fernández A., Muñoz-Hernández C., Sánchez-Sánchez M., et al. Exploring the diversity of tick-borne pathogens: The case of bacteria (*Anaplasma*, *Rickettsia*, *Coxiella* and *Borrelia*) protozoa (*Babesia* and *Theileria*) and viruses (*Orthonairovirus*, tick-borne encephalitis virus and louping ill virus) in the European continent. *Vet. Microbiol.* 2023;286:109892. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109892>
- Alekseev A.N., Dubinina H.V., Jushkova O.V. First report on the coexistence and compatibility of seven tick-borne pathogens in unfed adult *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina: Ixodidae*). *Int. J. Med. Microbiol.* 2004;293(Suppl. 37):104–8. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1433-1128\(04\)80015-9](https://doi.org/10.1016/s1433-1128(04)80015-9)
- Карташов М.Ю., Кривошеина Е.И., Свирин К.А. и др. Генотипирование возбудителей клещевых инфекций и определение видового состава клещей, нападающих на людей в г. Новосибирске и его пригородах. *Инфекция и иммунитет.* 2022;12(6):1103–12. Kartashov M.Yu., Krivosheina E.I., Svirin K.A., et al. Genotyping of tick-borne pathogens and determination of human attacking tick species in Novosibirsk and its suburbs. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2022;12(6):1103–12. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GOT-1979>
- Kartashov M.Yu., Glushkova L.I., Mikryukova T.P., et al. Detection of *Rickettsia helvetica* and Candidatus *R. tarasevi-*

- chiae* DNA in *Ixodes persulcatus* ticks collected in Northeastern European Russia (Komi Republic). *Ticks Tick Borne Dis.* 2017;8(4):588–92.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.001>
10. Rar V., Livanova N., Tkachev S., et al. Detection and genetic characterization of a wide range of infectious agents in *Ixodes pavlovskiyi* ticks in Western Siberia, Russia. *Parasit. Vectors.* 2017;10(1):258.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2186-5>
11. Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Кривошеина Е.И., и др. Генотипирование возбудителей клещевых инфекций в клещах *Dermacentor reticulatus*, собранных в городских биотопах г. Томска. *Паразитология.* 2019;53(5):355–69. Kartashov M.Yu., Mikryukova T.P., Krivosheina E.I., et al. Genotyping of tick-borne infections in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in urban foci of Tomsk. *Parazitologiya.* 2019;53(5):355–69.
DOI: <https://doi.org/10.1134/S0031184719050016>
EDN: <https://elibrary.ru/xodhop>
12. Alekseev A.N., Dubinina H.V., Van De Pol I., Schouls L.M. Identification of *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* in ixodes ticks in the Baltic regions of Russia. *J. Clin. Microbiol.* 2101;39(6):2237–42.
DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.39.6.2237-2242.2001>
13. Панферова Ю.А., Ваганова А.Н., Фрейлихман О.А., и др. Распространенность генетических маркеров *Borrelia burgdorferi sensu lato* у кровососущих клещей в парковых зонах Санкт-Петербурга. *Инфекция и иммунитет.* 2020;10(1):175–9. Panferova Yu.A., Vaganova A.N., Freilikhman O.A., et al. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genetic markers in blood-sucking ticks in suburban park zones in Saint Petersburg. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2020;10(1):175–9.
DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-POB-806>
14. Laaksonen M., Klemola T., Feuth E., et al. Tick-Borne pathogens in Finland: comparison of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* in sympatric and parapatric areas. *Parasit. Vectors.* 2018;11(1):556.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3131-y>
15. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства *Ixodinae*. Ленинград;1977. Filippova N.A. *Ixodid Ticks Subfamily Ixodinae*. Leningrad;1977.
16. Roux V., Rydkina E., Eremeeva M., Raoult D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1977;47(2):252–61.
DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-252>
17. Levin M.L., Ross D.E. Acquisition of different isolates of *Anaplasma phagocytophilum* by *Ixodes scapularis* from a model animal. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2004;4(1):53–9.
DOI: <https://doi.org/10.1089/153036604773082997>
18. Igolkina Y.P., Rar V.A., Yakimenko V.V., et al. Genetic variability of *Rickettsia* spp. in *Ixodes persulcatus*/*Ixodes trianguliceps* sympatric areas from Western Siberia, Russia: identification of a new *Candidatus Rickettsia* species. *Infect. Genet. Evol.* 2015;34:88–93.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.07.015>
19. Speck S., Derschum H., Damdindorj T., et al. *Rickettsia raoultii*, the predominant *Rickettsia* found in Mongolian *Dermacentor nuttalli*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3(4):227–31.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.04.001>
20. Wen J., Jiao D., Wang J.H., et al. *Rickettsia raoultii*, the predominant *Rickettsia* found in *Dermacentor silvarum* ticks in China–Russia border areas. *Exp. Appl. Acarol.* 2014;63(4):579–85.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9792-0>
21. Strle F., Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis. *Curr. Probl. Dermatol.* 2009;37:51–110.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000213070>
22. Norte A.C., Boyer P.H., Castillo-Ramirez S., et al. The population structure of *Borrelia lusitanae* is reflected by a population division of its *Ixodes* vector. *Microorganisms.* 2021;9(5):933.
DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050933>
23. Quarsten H., Henningsson A., Krogfelt K.A., et al. Tick-borne diseases under the radar in the North Sea Region. *Ticks Tick Borne Dis.* 2023;14(4):102185.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102185>
24. Arz C., Król N., Imholt C., et al. Spotted fever group rickettsiae in ticks and small mammals from grassland and forest habitats in Central Germany. *Pathogens.* 2023;12(7):933.
DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens12070933>
25. Răileanu C., Tauchmann O., Silaghi C. Sympatric occurrence of *Ixodes ricinus* with *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis concinna* and the associated tick-borne pathogens near the German Baltic coast. *Parasit. Vectors.* 2022;15(1):65.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05173-2>
26. Shpynov S., Fournier P.E., Rudakov N., et al. Detection of members of the genera *Rickettsia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* in ticks collected in the Asiatic part of Russia. *Ann. NY Acad. Sci.* 2006;1078:378–83.
DOI: <https://doi.org/10.1196/annals.1374.075>
27. Igolkina Y., Bondarenko E., Rar V., et al. Genetic variability of *Rickettsia* ssp. in *Ixodes persulcatus* ticks from continental and island areas of the Russian Far East. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7(6):1284–9.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.06.005>
28. Mediannikov O., Matsumoto K., Samoilenko I., et al. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with *Dermacentor* ticks in Europe and Russia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008;58(Pt. 7):1635–9.
DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64952-0>
29. Guccione C., Colomba C., Iaria C., Cascio A. Rickettsiales in the WHO European Region: an update from a One Health perspective. *Parasit. Vectors.* 2023;16(1):41.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05646-4>
30. Oteo J.A., Aránzazu P. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3(5-6):271–8.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.035>

Информация об авторах

Карташов Михаил Юрьевич — к.б.н., с.н.с. отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ГНЦ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7857-6822>

Волчев Евгений Георгиевич — аспирант Института живых систем Балтийского федерального университета им. И. Канта, Калининград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7401-3678>

Кривошеина Екатерина Ильинична — м.н.с. отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ГНЦ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5181-0415>

Свирин Кирилл Андреевич — м.н.с. отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ГНЦ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9083-1649>

Information about the authors

Mikhail Yu. Kartashov — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Department of molecular virology for flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7857-6822>

Evgenii G. Volchev — postgraduate student, Institute of Living Systems, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7401-3678>

Ekaterina I. Krivosheina — junior researcher, Department of molecular virology for flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5181-0415>

Терновой Владимир Александрович — к.б.н., в.н.с., зав. отделом молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ГНЦ «Вектор», Кольцово, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1275-171X>

Локтев Валерий Борисович[✉] — д.б.н., профессор, г.н.с. отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ГНЦ «Вектор», Кольцово, Россия, valeryloktev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0229-321X>

Участие авторов: *Карташов М.Ю.* — методология и дизайн исследования, геномные исследования, биоинформационный анализ, написание рукописи; *Волчев Е.Г.* — организация сбора и формирование коллекции иксодовых клещей, их идентификация и анализ первичных полевых данных, написание рукописи; *Кривошеина Е.И.*, *Свирин К.А.*, *Терновой В.А.* — геномные исследования, биоинформационный и статистический анализ, написание рукописи; *Локтев В.Б.* — концептуализация исследования, написание и редактирование рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 22.02.2024;
принята к публикации 10.04.2024;
опубликована 29.04.2024

Kirill A. Svirin — junior researcher, Department of molecular virology for flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9083-1649>

Vladimir A. Ternovoi — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Department of molecular virology for flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1275-171X>

Valery B. Loktev[✉] — D. Sci. (Biol.), Professor, chief researcher, Department of molecular virology for flaviviruses and viral hepatitis, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia, valeryloktev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0229-321X>

Author contribution: *Kartashov M.Yu.* — methodology and design of the research, genomic studies, bioinformatic analysis, writing the manuscript; *Volchev E.G.* — management and collection of ixodes ticks, their identification, analyses of fields data, writing the manuscript; *Krivosheina E.I.*, *Svirin K.A.*, *Ternovoi V.A.* — genomic studies, bioinformatics and statistical analysis, visualization, manuscript writing; *Loktev V.B.* — conceptualization of the study, writing and editing the manuscript. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 22.02.2024;
accepted for publication 10.04.2024;
published 29.04.2024