

Научная статья

УДК 619:576.895.421:579.841.95

doi: 10.31016/1998-8435-2021-15-4-29-35

Исследования клещей рода *Dermacentor* (Acari; Ixodidae) на естественную встречаемость возбудителя туляремии в условиях Центрального Предкавказья

Евгения Владимировна Лазаренко¹, Ольга Александровна Гнусарева²,
Людмила Ивановна Шапошникова³, Владимир Маркович Дубянский⁴

^{1,2,3,4} Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей благополучия человека, Ставрополь, Россия

¹lazarenko-eva@vail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1748-9696>

²gnusareva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9044-1808>

³mila.nikova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3207-6742>

⁴dvmplagua@gmail.com

Аннотация

Цель исследований: оценка естественной встречаемости *Francisella tularensis* в клещах рода *Dermacentor*; выяснение связи физиологического возраста и зараженности клещей возбудителем туляремии.

Материалы и методы. За период с 2015 по 2019 гг. на зараженность туляремией исследовано 8449 экз. *Dermacentor marginatus* (916 пулов), 8674 экз. *D. reticulatus* (705 пулов) и 109 экз. *D. niveus* (40 пулов). Для оценки зависимости обнаружения возбудителя туляремии в клещах разного физиологического возраста нами за период с 2016 по 2019 гг. исследовано 2440 экз. *D. marginatus* (360 пулов) и 3349 экз. *D. reticulatus* (412 пулов). Исследования на зараженность иксодовых клещей возбудителем туляремии проводили в лаборатории природно-очаговых инфекций Ставропольского противочумного института. Пулы иксодовых клещей исследовали на наличие ДНК возбудителя туляремии с использованием наборов реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. Зараженность клещей возбудителем туляремии в Центральном Предкавказье в разные годы колеблется в пределах 0,044–1,127% у *D. marginatus* и 0,035–1,455% у *D. reticulatus*. В наибольшем количестве *F. tularensis* выделяли от клещей III физиологического возраста. Для клещей *D. reticulatus* не выявлено статистически значимой зависимости обнаружения возбудителя туляремии от физиологического возраста.

Ключевые слова: иксодовые клещи, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*, *Francisella tularensis*, туляремия, зараженность, физиологический возраст

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Лазаренко Е. В., Гнусарева О. А., Шапошникова Л. И., Дубянский В. М. Исследования клещей рода *Dermacentor* (Acari; Ixodidae) на естественную встречаемость возбудителя туляремии в условиях Центрального Предкавказья // Российский паразитологический журнал. 2021. Т. 15. № 4. С. 29–35.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-4-29-35>

© Лазаренко Е. В., Гнусарева О. А., Шапошникова Л. И., Дубянский В. М., 2021



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Studies of ticks of the genus *Dermacentor* (Acari; Ixodidae) on the natural occurrence of tularemia pathogen in the conditions of the Central Pre-Caucasian region

Evgeniya V. Lazarenko¹, Olga A. Gnusareva², Ludmila I. Shaposhnikova³, Vladimir M. Dubyansky⁴

^{1,2,3,4} Stavropol Anti-Plague Research Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russia

¹lazarenko-eva@vail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1748-9696>

²gnusareva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9044-1808>

³mila.nikova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3207-6742>

⁴dvmplagua@gmail.com

Abstract

The purpose of the research is the assessment of the *Francisella tularensis* occurrence in nature in ticks of the genus *Dermacentor*; understanding the physiological age in terms of tick infection with tularemia pathogen.

Materials and methods. For the period from 2015 to 2019, we examined 8449 specimens of *Dermacentor marginatus* (916 pools), 8674 specimens of *D. reticulatus* (705 pools), and 109 specimens of *D. niveus* (40 pools) for tularemia infection. To assess the dependence of tularemia pathogen found in ticks of different physiological ages, we examined 2440 specimens of *D. marginatus* (360 pools), and 3349 specimens of *D. reticulatus* (412 pools) for the period from 2016 to 2019. Studies of ixodid ticks infected with tularemia pathogen were performed by the Natural Focal Infection Laboratory of the Stavropol Anti-Plague Institute. Pools of ixodid ticks were examined for the pathogen DNA of tularemia using reagent kits for identifying *Francisella tularensis* DNA by polymerase chain reaction with fluorescence hybridization of results recorded in real time.

Results and discussion. The infection rate of the tularemia pathogen in ticks in the Central Pre-Caucasian region ranged from 0.044–1.127% in *D. marginatus* and 0.035–1.455% in *D. reticulatus* in different years. The greatest number of *F. tularensis* was isolated from the III physiological age ticks. For *D. reticulatus* ticks, no statistically significant dependence of the detected tularemia pathogen on physiological age was found.

Keywords: ixodid ticks, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*, *Francisella tularensis*, tularemia, infection rate, physiological age

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Lazarenko E. V., Gnusareva O. A., Shaposhnikova L. I., Dubyansky V. M. Studies of ticks of the genus *Dermacentor* (Acari; Ixodidae) on the natural occurrence of tularemia pathogen in the conditions of the Central Pre-Caucasian region. *Rossiyskiy parazitologicheskij zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2021; 15 (4): 29–35. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-4-29-35>

© Lazarenko E. V., Gnusareva O. A., Shaposhnikova L. I., Dubyansky V. M., 2021

Введение

Клещи рода *Dermacentor* Koch, 1844 на территории Центрального Предкавказья представлены тремя видами. Обычными и распространенными являются *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1894) и *D. marginatus* (Sulzer, 1776).

Наибольшей численности эти виды достигают в лесостепной зоне. Обитают в различного типа степях, луговых и кустарниковых биотопах, приопушечных пространствах, лесополосах. Обитание третьего вида – *D. niveus* Neumann, 1897 известно только в восточной

части рассматриваемой территории (Терско-Кумское междуречье). Это наиболее редкий и малоизученный вид рода.

Широкое распространение на территории Центрального Предкавказья, высокая численность и длительный период активности имаго указывают на большое эпидемиологическое значение клещей рода *Dermacentor*. Представителям рода отводится ведущая роль в очагах туляремии на изучаемой территории.

Туляремия – актуальное инфекционное заболевание для региона. Активность природного очага туляремии на данной территории подтверждена выделением штаммов возбудителя туляремии из иксодовых клещей, мелких млекопитающих и воды открытых водоемов. Трансмиссивный тип заболевания людей в общей структуре заболеваемости составляет 2,0% [2].

Показатель физиологического возраста (ФВ) является важным критерием состояния природных популяций иксодовых клещей и имеет важное эпидемиологическое значение. С физиологическим возрастом иксодовых клещей связаны их жизнеспособность, активность, агрессивность. Особое значение имеет связь между возрастом клещей и их восприимчивостью к патогенам [4, 6].

Цель работы – оценка естественной встречаемости *F. tularensis* в клещах рода *Dermacentor*; выяснение связи физиологического возраста и зараженности клещей возбудителем туляремии.

Материалы и методы

В период с 2015 по 2019 гг. на зараженность туляремией исследовано 8449 экз. *D. marginatus*, из которых сформировано 916 пулов, 8674 экз. *D. reticulatus* (705 пулов) и 109 экз. *D. niveus* (40 пулов).

Для оценки зависимости обнаружения возбудителя туляремии в клещах разного физиологического возраста нами за 2016–2019 гг. исследовано 2440 экз. *D. marginatus* (360 пулов), 3349 экз. *D. reticulatus* (412 пулов).

Исследования на зараженность иксодовых клещей возбудителем туляремии проводили в лаборатории природно-очаговых инфекций Ставропольского противочумного института в соответствии с нормативно-методическими документами [МУ 3.1.2007-05; МУК 4.2.2939-11]. Пулы иксодовых клещей исследовали методом ПЦР на наличие ДНК возбудителя

туляремии с использованием наборов реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени (Ген *F. tularensis* – РГФ) (производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). Выделение ДНК проводили с использованием набора реагентов «Рибо-Преп» (производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва).

Процент зараженных клещей в популяции (X) рассчитывали по формуле Беклемишева:

$$X = \frac{(\log N - \log n_0) \cdot 100}{0,434 \cdot m},$$

где $\log N$ – десятичный логарифм общего числа исследований; $\log n_0$ – десятичный логарифм числа исследований, давших отрицательный результат; m – число эктопаразитов в пробе (пробах).

Статистическую обработку данных проводили с использованием Statistica 10.0, анализ таблиц сопряженности – с использованием критерия χ^2 (Chi-square, хи-квадрат) с поправкой Йейтса, если хотя бы одна частота была меньше 10 с последующей проверкой связи искомой переменной относительно других категорий.

Визуальную оценку возраста осуществляли, используя признаки, предложенные И. В. Разумовой [3]: полноту тела, внешний вид кутикулы (морщинистость, цвет), просматриваемость сквозь кутикулу отдельных внутренних органов.

По внешним признакам отобраны наиболее различающиеся по физиологическому возрасту особи. Выделены три возрастные группы: молодые (II физиологический возраст), зрелые (III физиологический возраст) и старые (IV физиологический возраст). Для определения состояния клещей использовали световой бинокулярный микроскоп МБС-10.

Результаты и обсуждение

В 2015 г. исследовано 1912 экз. клещей *D. marginatus* и 2863 экз. клещей *D. reticulatus*, из которых составлено 229 и 230 проб соответственно. ДНК возбудителя туляремии обнаружена в восьми пробах *D. marginatus* и в одной пробе *D. reticulatus*. Число зараженных проб составило 3,49 и 0,43% соответственно.

В 2016 г. исследовано 702 экз. *D. marginatus*, 1104 экз. *D. reticulatus* и 59 экз. *D. niveus*. ДНК возбудителя туляремии обнаружена в шести пробах *D. marginatus* (6,97%), в восьми пробах *D. reticulatus* (11,76%) и в двух пробах *D. niveus* (11,76%).

В 2017 г. из исследованных 233 проб клещей *D. marginatus* и 179 проб *D. reticulatus* ДНК возбудителя туляремии обнаружена соответственно в 29 (12,45%) и 24 (13,40%) пробах.

В 2018 г. на наличие ДНК *F. tularensis* исследовано 2253 экз. *D. marginatus* (263 пробы), 1775 экз. *D. reticulatus* (228 проб) и 44 экз. *D. niveus* (18 проб). Положительные ре-

зультаты получены в одной пробе (0,38%) из клещей *D. marginatus* и в семи пробах (2,63%) из клещей *D. reticulatus*. Пробы, составленные из клещей *D. niveus*, не дали положительных результатов.

В 2019 г. исследовано 818 экз. клещей *D. marginatus* (105 проб), из которых пять (4,7%) дали положительный результат. Из 1149 экз. клещей *D. reticulatus* (154 пробы), две (1,3%) дали положительный результат. При исследовании 6 экз. клещей *D. niveus* (пять проб) положительных результатов не получено.

Данные по изучению зараженности иксодовых клещей приведены в табл. 1.

Таблица 1 [Table 1]

Зараженность иксодовых клещей рода Dermacentor возбудителем туляремии в природной популяции в 2015–2019 гг.
[Infection of Ixodid ticks of the genus Dermacentor with tularemia pathogen in the natural population in 2015–2019]

Год исследований [Year of research]	Процент зараженности клещей [Tick infection percentage]		
	<i>D. marginatus</i>	<i>D. reticulatus</i>	<i>D. niveus</i>
2015	0,428	0,035	-
2016	0,882	0,773	3,683
2017	1,127	1,455	-
2018	0,044	0	0
2019	0,632	0,176	0

Зараженность клещей неодинакова в различных ландшафтных зонах. Наибольшее число положительных результатов получено от голодных клещей, собранных с растительности в лесостепной ландшафтной зоне – 32,8% *D. marginatus* и 31,6% *D. reticulatus* (от общего числа положительных результатов, полученных от голодных клещей). В предгорной ландшафтной зоне больше положительных проб получено от клещей *D. reticulatus* – 15,8%. От *D. marginatus* установлено девять положительных проб, что составило 11,8%. В степной ландшафтной зоне положительные результаты получены только от *D. marginatus* – 6,6%. В полупустынной ландшафтной зоне одну положительную пробу (1,3%) дали клещи *D. reticulatus*.

Результаты изучения зависимости частоты естественной встречаемости возбудителя туляремии от физиологического возраста иксодид в течение четырех (2016–2019 гг.) сезонов активности приведены в табл. 2.

При исследовании иксодовых клещей воз-

будителя туляремии преимущественно выделяли от клещей *D. marginatus*. Этот вид в природных условиях тесно связан в своем развитии с грызунами. Возбудитель туляремии передается клещами *D. marginatus* трансфазово, что обеспечивает его длительное сохранение в природном очаге.

Наши исследования указывают на достоверную связь между физиологическим возрастом клещей *D. marginatus* и выявляемостью возбудителя туляремии в них. Значение хи-квадрата Пирсона для вида *D. marginatus* равно 23,60153 при числе степеней свободы $df = 2$ и уровне значимости $P = 0,00001$. Также имеется достоверно выраженная связь более редкого обнаружения зараженных клещей II физиологического возраста по сравнению с экземплярами III ($P = 0,00000$) и IV ($P = 0,000003$) физиологического возраста.

Не обнаружено различия в зараженности клещей вида *D. reticulatus* в зависимости от физиологического возраста. Значение хи-квадрата Пирсона для данного вида равно

Таблица 2 [Table 2]

Результаты исследования клещей *D. reticulatus* и *D. marginatus* разного физиологического возраста на наличие возбудителя *F. tularensis*
 [Results of the study of *D. reticulatus* and *D. marginatus* ticks of different physiological ages for the presence of *F. tularensis* pathogen]

Физиологический возраст [Physiological age]	Число клещей, давших отрицательный результат на наличие возбудителя туляремии [The number of ticks that gave a negative result for the presence of tularemia pathogen]		Число клещей, давших положительный результат на наличие возбудителя туляремии [The number of ticks that gave a positive result for the presence of tularemia pathogen]		Общее число клещей данной возрастной группы [The total number of ticks in this age group]	
	экз.	%	экз.	%	экз.	%
<i>D. reticulatus</i>						
II	1080	32,25	79	2,36	1159	34,61
III	1726	51,54	149	4,45	1875	55,98
IV	284	8,48	31	0,93	315	9,41
Итого [Total]	3090	92,27	259	7,73	3349	100
<i>D. marginatus</i>						
II	577	22,66	36	1,48	613	25,14
III	1115	45,72	167	6,85	1282	52,56
IV	473	19,39	71	2,91	544	22,30
Итого [Total]	2165	88,77	274	11,23	2439	100

3,447288 при числе степеней свободы $df = 2$ и уровне значимости $P = 0,17841$.

Заключение

Результаты наших исследований показали, что зараженность клещей возбудителем туляремии в природных популяциях Центрального Предкавказья колеблется по годам. Максимальный процент зараженных клещей в популяции наблюдали в 2017 г. – 1,127 у *D. marginatus* и 1,455 – у *D. reticulatus*, минимальный процент в 2018 г. – 0,044 у *D. marginatus*. Возбудитель туляремии в клещах *D. reticulatus* в 2018 г. не обнаружен. Положительные результаты от клещей *D. niveus* за время исследования были получены только в 2016 г. (3,683%).

Зараженность клещей неодинакова по различным ландшафтным зонам. Наибольшее число положительных результатов получено от голодных клещей, собранных с растительности в лесостепной ландшафтной зоне, наименьшее – в полупустынной ландшафтной зоне.

При изучении естественной зараженности клещей *D. marginatus* возбудителем туляремии в зависимости от их физиологического возраста в наибольшем проценте случаев (и в наибольшем количестве) *F. tularensis* выделяли от клещей III физиологического возраста.

Для клещей *D. reticulatus* не выявлено статистически значимой зависимости обнаружения возбудителя туляремии от физиологического возраста.

Согласно данным некоторых исследователей [1, 5], зараженность патогенами увеличивает двигательную активность и усиливает реакцию на прокормителя у клещей III физиологического возраста. В связи с этим, они выступают как более активные переносчики патогенов, чем клещи других физиологических возрастов.

Таким образом, в Центральном Предкавказье из клещей рода *Dermacentor* наиболее успешными переносчиками возбудителя туляремии являются иксодовые клещи *D. marginatus* III физиологического возраста.

Список источников

1. Алексеев А. Н. Система клещ – возбудитель и её эмерджентные свойства. СПб.: изд-во РАН, 1993. 204 с.
2. Зайцев А. А., Гнусарева О. А., Агапитов Д. С., Остапович В. В., Котенев Е. С. Эпидемические типы заболевания людей туляремией на территории Ставропольского края в период эпидемических проявлений различной интенсивности 2003–2017 гг. // Здоровье населения и среда обитания. Ставрополь, 2018. С. 153-158.
3. Разумова И. В. Определение физиологического возраста живых иксодовых клещей // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2001. Т. 3. С. 16-22.
4. Разумова И. В., Алексеев А. Н. Влияние физиологического возраста клещей *Dermacentor marginatus* (Ixodidae) на их заражение и проникновение вируса клещевого энцефалита в слюну // Паразитология. 1991. Т. 25. Вып. 2. С. 147-155.
5. Семенкова Л. О., Буренкова Л. А., Лопатина Ю. В., Наумов Р. Л. Зараженность боррелиями *Borrelia burgdorferi* s.l. и поведение клещей *Ixodes ricinus* различного физиологического возраста (Московская область) // Материалы IV Всероссийского Съезда Паразитологического общества при РАН «Паразитология в XXI веке – проблемы, методы, решения». Санкт-Петербург, 2008. Т. 3. С. 131-135.
6. Uspensky I. Physiological age of ixodid ticks: aspects of its determination and application. J. Med. Entomol. 1995; 32. 751-764.

Статья поступила в редакцию 14.05.2021; принята к публикации 15.10.2021

Об авторах:

Лазаренко Евгения Владимировна, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355005, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15), Ставрополь, Россия, биолог лаборатории медицинской паразитологии, **ORCID ID:** 0000-0002-1748-9696, **lazarenko-eva@vmail.ru**

Гнусарева Ольга Александровна, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355005, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15), Ставрополь, Россия, биолог лаборатории медицинской паразитологии, **ORCID ID:** 0000-0002-9044-1808, **gnusareva@mail.ru**

Шапошникова Людмила Ивановна, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355005, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15), Ставрополь, Россия, кандидат биологических наук, **ORCID ID:** 0000-0002-3207-6742, **mila.nikova.72@mail.ru**

Дубянский Владимир Маркович, Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355005, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15), Ставрополь, Россия, доктор биологических наук, **dvmplagua@gmail.com**

Вклад соавторов:

Лазаренко Е. В. – критический анализ материалов, обзор исследований по проблеме.

Гнусарева О. А. – идентификация возбудителя туляремии в полевом материале.

Шапошникова Л. И. – критический анализ материалов, обзор исследований по проблеме.

Дубянский В. М. – научное руководство, критический анализ материалов и формирование выводов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Alekseev A. N. The tick-pathogen system and its emergent properties. SPb.: Publishing House of the Russian Academy of Sciences, 1993; 204. (In Russ.)
2. Zaytsev A. A., Gnusareva O. A., Agapitov D. S., Ostapovich V. V., Kotenev E. S. Epidemic types of tularemia in humans in the Stavropol Territory during the period of epidemic process manifestations of varying intensity in 2003–2017. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public health and habitat*. Stavropol, 2018; 153-158. (In Russ.)
3. Razumova I. V. Physiological age determination of live ixodid ticks. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnyye bolezni = Medical parasitology and parasitic diseases*. 2001; 3. 16-22. (In Russ.)
4. Razumova I. V., Alekseev A. N. Influence of the physiological age of *Dermacentor marginatus* (Ixodidae) ticks on their infection and penetration of the tick-borne encephalitis virus into saliva. *Parazitologiya = Parasitology*. 1991; 25 (2): 147-155. (In Russ.)
5. Semenkov L. O., Burenkova L. A., Lopatina Yu. V., Naumov R. L. Borrelia infection of *Borrelia burgdorferi* s.l. and behavior of *Ixodes ricinus* ticks of various physiological age (Moscow Region). *Materialy IV Vserossiyskogo S"yezda Parazitologicheskogo obshchestva pri RAN «Parazitologiya v XXI veke – problemy, metody, resheniya» = Materials of the IV All-Russian Congress of the Parasitological Society of the Russian Academy of Sciences "Parasitology in the XXI century – issues, methods, and solutions"*. St. Petersburg, 2008; 3. 131-135. (In Russ.)
6. Uspensky I. Physiological age of ixodid ticks: aspects of its determination and application. *J. Med. Entomol.* 1995; 32. 751-764.

The article was submitted 14.05.2021; accepted for publication 15.10.2021

About the authors:

Lazarenko Evgenia V., Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor (355005, Stavropol, Sovetskaya st., 13-15), Stavropol, Russia, biologist of the laboratory of medical parasitology, **ORCID ID:** 0000-0002-1748-9696, **lazarenko-eva@vail.ru**

Zubairova Madina M., Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor (355005, Stavropol, Sovetskaya st., 13-15), Stavropol, Russia, biologist of the laboratory of medical parasitology, **ORCID ID:** 0000-0002-9044-1808, **gnusarevao@mail.ru**

Karsakov Nadyrsoltan T., Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor (355005, Stavropol, Sovetskaya st., 13-15), Stavropol, Russia, Candidate of Biological Sciences, **ORCID ID:** 0000-0002-3207-6742, **mila.nikova.72@mail.ru**

Dubyansky Vladimir M., Stavropol Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor (355005, Stavropol, Sovetskaya st., 13-15), Stavropol, Russia, Doctor of Biological Sciences, **dvmplagua@gmail.com**

Contribution of co-authors:

Lazarenko Evgenia V. – critical analysis of materials, review of research on the problem.

Zubairova Madina M. – identification of the causative agent of tularemia in the left material.

Karsakov Nadyrsoltan T. – critical analysis of materials, review of research on the problem.

Dubyansky Vladimir M. – scientific leadership, critical analysis of materials and the formation of conclusions.

All authors have read and approved the final manuscript.