

УДК 576.895.421+591.09

© 1990

**ЗАРАЖЕННОСТЬ КЛЕЩЕЙ *IXODES PERSULCATUS*  
ВОЗБУДИТЕЛЯМИ БОЛЕЗНИ ЛАЙМА И КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА  
ОДНОВРЕМЕННО**

**Э. И. Коренберг, С. В. Щербаков, Г. Г. Баннова, М. Л. Левин, А. С. Караванов**

Путем индивидуального бактериологического и вирусологического исследования взрослых клещей *Ixodes persulcatus* и сопоставления полученных результатов установлена их одновременная спонтанная зараженность возбудителями болезни Лайма и клещевого энцефалита. Обсуждается возможная частота такой микстзараженности этих переносчиков.

Иксодовые клещи *Ixodes ricinus* (L.) и *I. persulcatus* Sch., широко распространенные в лесах Евразии (Коренберг, 1979, 1985), — это, как хорошо известно, основные переносчики в очагах клещевого энцефалита. Степень их зараженности вирусом в различных регионах не одинакова, но чаще всего не превышает нескольких процентов (Коренберг, Ковалевский, 1981). В последние годы установлено, что они являются также переносчиками боррелий (*Borrelia burgdorferi*) возбудителя болезни Лайма (Barbour e. a., 1983; Burgdorfer e. a., 1983; Åsbrink e. a., 1984; Коренберг и др., 1987а, 1988б; Крючечников и др., 1988), зараженность которыми доходит до нескольких десятков процентов. Накапливающиеся данные подтверждают представление (Korenberg e. a., 1986; Коренберг и др., 1987б) о тесной связи распространения этой инфекции в Старом Свете с ареалами клещей *I. ricinus* и *I. persulcatus*.

Совершенно очевидно, что на нашем континенте сопряженные природные очаги болезни Лайма и клещевого энцефалита должны быть обычным явлением. Однако данное предположение пока не имеет прямых фактических подтверждений, хотя серологически верифицированные случаи микстинфекции у людей уже известны (Коренберг и др., 1988б; Мебель и др., 1988). В этой связи первостепенное значение имеют данные о возможности и частоте одновременной спонтанной зараженности клещей-переносчиков возбудителями болезни Лайма и клещевого энцефалита. В настоящей статье изложены результаты бактериологического и вирусологического исследования клещей, осуществленного, чтобы получить такие данные.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Во второй половине мая 1987 г. в Хабаровском крае (примерно в 15—20 км от г. Хабаровска) флагами с растительности собрано более 1000 взрослых голодных клещей *I. persulcatus*. По данным санэпидслужбы, на этой территории в предшествующие годы неоднократно имели место случаи заражения людей клещевым энцефалитом. В 1986 г. около 20 % отловленных здесь клещей этого вида содержали боррелий (Коренберг и др., 1987а).

Живых клещей индивидуально исследовали на наличие боррелий и вируса. Для этого их впаивали в смесь парафина, воска и канифоли, промывали эта-

нолом, затем дважды стерильным физиологическим раствором с соблюдением правил асептики под бинокляром по методике Сидорова и др. (1967). Из клеща извлекали среднюю кишку, в которой легче всего обнаружить боррелий (Крючечников, 1985). Оставшуюся большую часть тела клеща целиком помещали в стерильную пластмассовую пробирку с крышкой объемом 0.5 мл, наполненную стерильным физиологическим раствором. Пробирки с этим материалом, предназначенным для вирусологических исследований, некоторое время хранили при температуре  $-70^{\circ}$ .

Для обнаружения и идентификации боррелий из средней кишки каждого клеща готовили 2 мазка на предметном стекле. Один из них после подсушивания фиксировали на пламени, окрашивали гимза-кристаллвиолетом и просматривали в световом микроскопе с масляной иммерсией при общем увеличении  $\times 600$ . Такие препараты дают возможность наиболее полно выявить зараженных клещей (Ковалевский и др., 1988). Вторые мазки от клещей, у которых микроскопией были обнаружены спирохеты, использованы для идентификации последних в непрямой реакции иммунофлуоресценции. Для этого были взяты иммунные сыворотки реконвалесцентов с высокими титрами антител к *B. burgdorferi*. Методика проведения этой реакции описана ранее (Крючечников и др., 1985). С ее помощью исследованы мазки от 25 клещей со спирохетами 11.1 % от общего числа зараженных и во всех случаях подтверждена их принадлежность к *B. burgdorferi*. Кроме того, параллельно с описываемым исследованием часть собранных клещей была использована для непосредственной изоляции боррелий. Полученные при этом штаммы идентифицированы с помощью специфических моноклональных антител как *B. burgdorferi* (Крючечников и др., 1988).

Для обнаружения возбудителя клещевого энцефалита материал от каждого клеща, предназначенный для вирусологического исследования, суспендировали в 1 мл смеси, состоящей из среды 199 на растворе Эрла с добавлением 25 % инактивированной нормальной телячьей сыворотки и антибиотиков. Вирус выделяли на культуре клеток СПЭВ и идентифицировали прямым методом флуоресцирующих антител, а также в РТГА и РСК. Изоляты титровали по бляшкообразованию и выявлением специфического цитопатогенного действия. Приемы вирусологической работы на всех ее этапах подробно описаны ранее (Баннова и др., 1984; Коренберг и др., 1988а).

Всего исследовано 985 *I. persulcatus*, среди которых самцов и самок было примерно равное количество. По техническим причинам вирусологически удалось исследовать на 14 клещей меньше, чем бактериологически.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общие итоги выявления зараженности клещей возбудителями болезни Лайма и клещевого энцефалита представлены в таблице. Относительное количество *I. persulcatus* с боррелиями в 1987 г. оказалось практически таким же, как и в 1986 г. (Коренберг и др., 1987а). Это дает основание считать данный уровень зараженности переносчика возбудителем боррелиоза характерным для участков, где были собраны клещи. Индивидуальная зараженность этих членистоногих вирусом соответствует показателям, типичным для природных очагов клещевого энцефалита данного региона (Коренберг, Ковалевский, 1981).

Около 0.5 % клещей содержали одновременно боррелий и вирус клещевого энцефалита, что полностью соответствует расчетным показателям возможной микстзараженности (0.3—0.9 %), которые получаются при умножении долей клещей, содержавших только боррелий (без вируса) и только вирус (без боррелий) (см. таблицу).

Показатели зараженности боррелиями среди невирусофорных и вирусофорных клещей практически идентичны, равно как и показатели вирусофорности у членистоногих, не содержавших боррелий и имевших их. Титры вируса у 20

Результаты индивидуального бактериологического и вирусологического исследования клещей *I. persulcatus*

Характер исследования и группа клещей	Исследовано особей	Из них зараженных	
		Абс.	% $M \pm 2m$
На зараженность боррелиями:			
без вируса	962	221	23.0 ± 2.7
с вирусом	23	5	21.7 ± 17.2
всего	985	226	22.9 ± 2.7
На зараженность вирусом:			
без боррелий	745	18	2.4 ± 1.1
с боррелиями	226	5	2.2 ± 2.0
всего	971	23	2.4 ± 1.0
На зараженность двумя возбудителями:	971	5	0.5 ± 0.4

клещей из 23 вирусифорных были небольшими (около 2 lg БОЕ/мл) независимо от наличия или отсутствия у них боррелий. Но два клеща содержали большие дозы вируса: 7.0 и 7.04 lg БОЕ/мл. Один из них не имел боррелий, а у второго они обнаружены. Приведенные факты свидетельствуют о том, что наличие *B. burgdorferi* у клеща, видимо, не имеет существенного значения для присутствия в его организме вируса клещевого энцефалита, который в свою очередь, очевидно, не оказывает заметного действия на боррелий.

Если принять это положение, то, ориентируясь на известные для различных частей ареала клещевого энцефалита показатели индивидуальной вирусифорности клещей (Коренберг, Ковалевский, 1981; Коренберг и др., 1988) и выявленные к настоящему времени максимальные для нашей страны значения их зараженности боррелиями, которые местами доходят до 50 % (Ковалевский и др., 1988; Коренберг и др., 1988б), можно предположительно оценить возможную частоту микстзараженности у *I. ricinus* и *I. persulcatus*. В природных очагах некоторых регионов или на их отдельных участках, по всей видимости, до 5—10 % клещей могут оказаться зараженными возбудителями болезни Лайма и клещевого энцефалита одновременно. Однако чаще всего этот показатель, очевидно, не превышает нескольких процентов.

Итак, приведенные материалы не только свидетельствуют о существовании сопряженных природных очагов боррелиоза Лайма и клещевого энцефалита, но и впервые доказывают реальность спонтанной зараженности одной особи клеща возбудителями двух этих заболеваний. В этой связи изучение частоты микстинфекции у людей в различных регионах, ее ранних и отдаленных клинических проявлений и наиболее эффективных способов лечения представляется новой актуальной задачей медицинской науки и здравоохранения.

#### Список литературы

- Баннова Г. Г., Семашко И. В., Караванов А. С., Сарманова Е. С., Андреева Е. Б. Титры вируса в клещах *Ixodes persulcatus* из различных частей нозоареала клещевого энцефалита // Мед. паразитол. 1984. № 1. С. 34—36.
- Ковалевский Ю. В., Крючечников В. Н., Коренберг Э. И. Сравнительная оценка двух методов индикации боррелий в клещах-переносчиках болезни Лайма // Мед. паразитол. 1988. № 5. С. 75—77.
- Коренберг Э. И. Биохорологическая структура вида (на примере таежного клеща). М.: Наука, 1979. 170 с.
- Коренберг Э. И. Границы ареала и его тип // Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae). Морфология, систематика, медицинское значение. Л.: Наука, 1985. С. 188—193.
- Коренберг Э. И., Баннова Г. Г., Ковалевский Ю. В., Караванов А. С. Внутрипопуляционные различия инфицированности взрослых *Ixodes persulcatus* вирусом клещевого

- энцефалита и оценка его суммарного содержания в клещах // Вопр. вирусол. 1988а. Вып. 4. С. 456—461.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В. Районирование ареала клещевого энцефалита. Итоги науки и техники. Серия мед. геогр. Т. 11. М., ВИНТИ, 1981, 148 с.
- Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузнецова Р. И., Фонарев Л. С., Чурилова А. А., Антыкова Л. П., Калинин М. И., Крючечников В. Н., Мебель Б. Д., Щербаков С. В., Ковтуненко С. С. Выявление и первые результаты изучения болезни Лайма на северо-западе СССР // Мед. паразитол. 1988б. № 1. С. 45—48.
- Коренберг Э. И., Крючечников В. Н., Ковалевский Ю. В., Щербаков С. В., Кузнецова Р. И., Левин М. Л. Клещ *Ixodes persulcatus* Schulze — новый переносчик *Borrelia burgdorferi* ДАН СССР. 1987а. Т. 297, № 5. С. 1268—1270.
- Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Крючечников В. Н. Материалы по распространению болезни Лайма в СССР // Мед. паразитол. 1987б. № 2. С. 71—73.
- Крючечников В. Н. Хроническая мигрирующая эритема, или болезнь Лайма, — новый клещевой спирохетоз // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1985. Вып. 9. С. 101—109.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Калинин А. А., Амридинов К. Н., Пчелкин А. И. Обоснование возможности применения непрямой реакции флуоресценции для серологической диагностики клещевых боррелиозов // Мед. паразитол. 1985. № 6. С. 39—42.
- Крючечников В. Н., Коренберг Э. И., Щербаков С. В., Ковалевский Ю. В., Левин М. Л. Идентификация боррелий, изолированных в СССР от клещей *Ixodes persulcatus* Schulze // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1988. Вып. 12. С. 41—44.
- Мебель Б. Д., Бейтришвили Г. А., Живич М. Б., Осетров Б. А., Кузнецова Р. И., Коренберг Э. И., Калинин М. И. Клиника острого периода клещевого боррелиоза Лайма // Мед. паразитол. 1988. № 3. С. 30—33.
- Сидоров В. Е., Гроховская И. М., Крючечников В. Н. Поддержание штаммов риккетсий *Dermacentrophenus sibiricus* на клещах *Ornithodoros lahorensis* Neumann // Мед. паразитол. 1967. № 3. С. 323—327.
- Asbrink E., Hederstedt B., Hovmark A. The Spirochetal Etiology of Erythema chronicum migrans Afzelius // Acta Derm. Venerol (Stockh.). 1984. Vol. 64. P. 291—295.
- Barbour A., Burgdorfer W., Hayes S., Peter O., Aeschlimann A. Isolation of a cultivable spirochete from *Ixodes ricinus* ticks of Switzerland // Curr. Microbiol. 1983. Vol. 8. P. 123—126.
- Burgdorfer W., Barbour A., Hayes S., Peter O., Aeschlimann A. Erythema chronicum migrans — a tickborne spirochetosis // Acta Tropica. 1983. Vol. 40. P. 79—83.
- Korenberg E. I., Kruchechnikov V. N., Ananyina Yu. V., Chernukha Yu. G. Prerequisites of the Existence of Lyme Disease in the USSR // Zbl. Bact. Hyg., A. 1986. Vol. 263, N 3. P. 471—472.

НИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР,  
Институт полиомиелита  
и вирусных энцефалитов АМН СССР,  
Москва

Поступила 16.03.1989

#### SIMULTANEOUS INFECTION OF IXODES PERSULCATUS TICKS WITH AGENTS OF LIME'S DISEASE AND TICK-BORNE ENCEPHALITIS

E. I. Korenberg, S. V. Shcherbakov, G. G. Bannova, M. L. Levin, A. S. Karavanov

#### SUMMARY

By means of individual bacteriological and virusological investigations of adult *Ixodes persulcatus* ticks and comparison of obtained results there has been established their simultaneous spontaneous infection with agents of Lime's disease and tick-borne encephalitis. A possible frequency of such mixtinfestation in these vectors is being discussed.