

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Гафарова М.Т.<sup>1</sup>, Бондаренко Е.И.<sup>2</sup>, Малый К.Д.<sup>1</sup>, Алиева Э.Э.<sup>3</sup>, Евстафьев И.Л.<sup>4</sup>, Товпинец Н.Н.<sup>4</sup>, Малая Н.К.<sup>1</sup>, Кубышкин А.В.<sup>1</sup>

## РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ КЛЕЩЕВЫХ РИККЕТСИОЗОВ НА КРЫМСКОМ ПОЛУОСТРОВЕ

<sup>1</sup>Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», 295051, Симферополь, Россия;

<sup>2</sup>АО «Вектор-Бест», 630117, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ «Сакский военный клинический санаторий им. Н. И. Пирогова» Министерства обороны России, 296500, Саки, Россия;

<sup>4</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе Федерального значения Севастополе», 295034, Симферополь, Россия

*Представлены результаты исследования распространённости иксодовых клещей – переносчиков возбудителей клещевых риккетсиозов для оценки их потенциальной роли в заболеваемости местного и прибывающего населения. Эктопаразиты собраны в различных природно-климатических зонах Крымского полуострова в период 2016-2018 гг. В результате проведенного скрининга с помощью ПЦР-анализа в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в клещах выявлен генетический маркер (участок гена *gltA*) риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки. Наиболее часто ДНК-маркер риккетсий обнаружен в клещах в восточных районах степной зоны – 50,6 %, в северо-западной части степной зоны эта величина составила 12,0%. Реже ДНК-мишень риккетсий выявлена в клещах, собранных в горнолесной и южнобережной зоне – 4,5%. В результате секвенирования положительных образцов ДНК по фрагментам генов *gltA*, *ompA*, *ompB*, *sca4* установлен видовой состав риккетсий. Идентифицирована ДНК 8 видов риккетсий: *R. conorii*, *R. massiliae*, *R. sibirica subsp. mongolotimonae*, *R. slovacica*, *R. aeschlimannii*, *R. monacensis*, *R. helvetica*, *R. raoultii*. ДНК трёх видов – *R. massiliae*, *R. slovacica*, *R. helvetica* в Крыму установлена впервые. Определены особенности географического распространения выявленных видов риккетсий, что обусловлено наличием клещей-переносчиков. Разнообразие видов риккетсий и их переносчиков связано с изолированностью ареалов основных животных-прокормителей и сложившимися маршрутами миграций птиц на территории Крымского полуострова. Результаты дают основание предполагать, что заболевания клещевыми риккетсиозами в Крыму, могут быть вызваны не только *R. conorii*, как считалось ранее, но и другими видами патогенных для человека риккетсий.*

**Ключевые слова:** иксодовые клещи; ДНК-маркер риккетсий; ПЦР-РВ; виды риккетсий.

**Для цитирования:** Гафарова М.Т., Бондаренко Е.И., Малый К.Д., Алиева Э.Э., Евстафьев И.Л., Товпинец Н.Н., Малая Н.К., Кубышкин А.В. Распространённость возбудителей трансмиссивных клещевых риккетсиозов на Крымском полуострове. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (3): 170-176.

DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-170-176>

**Для корреспонденции:** Гафарова Мунивер Тейфуковна, д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней; e-mail: [muniver@mail.ru](mailto:muniver@mail.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.07.2021

Принята к печати 12.10.2021

Опубликовано 25.03.2022

*Gafarova M. T.<sup>1</sup>, Bondarenko E. I.<sup>2</sup>, Maliy K. D.<sup>1</sup>, Alieva E. E.<sup>3</sup>, Evstafiev I. L.<sup>4</sup>, Tovpinec N. N.<sup>4</sup>, Malaya N. K.<sup>1</sup>, Kubyshkin A. V.<sup>1</sup>*

## PREVALENCE OF CAUSATIVE AGENTS OF TRANSMISSIVE TICK-BORNE RICKETTSIOSIS IN THE CRIMEAN PENINSULA

<sup>1</sup>Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, 295051, Simferopol, Russia;

<sup>2</sup>AO "Vector-Best", 630117, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Institution "N. I. Pirogov Saki Military Clinical Sanatorium", Ministry of Defense of Russia, 296500, Saki, Russia;

<sup>4</sup>FBUZ "Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Crimea and the federal city of Sevastopol", 295034, Simferopol, Russia

*The paper presents the results of a study of the prevalence of Ixodid ticks – potential carriers of tick-borne rickettsiosis pathogens. Ectoparasites were collected in various natural and climatic zones of the Crimean Peninsula within the year 2016-2018. As a result of screening with the help of real-time PCR analysis (PCR-RT), a genetic marker (a section of the *gltA* gene) of the rickettsia group of tick-borne spotted fever was detected in ticks. The most common DNA marker of rickettsia was found in ticks in the eastern regions of the steppe zone – 50,6 %, in the north-western part of the steppe zone this value was 12,0 %. The least amount of rickettsia target DNA was detected in ticks collected in the mountain forest and south bank zones – 4,5 %. As a result of sequencing of positive DNA samples from fragments of the *gltA*, *ompA*, *ompB*, and *sca4* genes, the species composition of rickettsias was established. The DNA of 8 species of rickettsia was identified: Circulation of three *R. conorii*, *R. massiliae*, *R. sibirica subsp. mongolotimonae*, *R. slovacica*, *R. aeschlimannii*, *R. monacensis*, *R. helvetica*, *R. raoultii*. *R. massiliae*, *R. slovacica*, and *R. helvetica* were established in the Crimean Peninsula for the first time. The peculiarities of the geographical distribution of the identified rickettsia species were determined, which was due to the spread of mites-carriers of pathogens. The revealed diversity of rickettsia species and their vectors, due to the isolation of the areas of the main feeding animals and the established routes of migratory*

birds, suggests the circulation of other rickettsia species on the territory of the Crimean Peninsula. The obtained results suggest that the diseases of tick-borne rickettsiosis in the Crimean Peninsula can be caused not only by *R. conorii*, as previously thought, but also by other types of rickettsii.

**Key words:** ixodid ticks; DNA marker of rickettsia; PCR-RT; rickettsia species.

**For citation:** Gafarova M.T., Bondarenko E.I., Maliy K.D., Alieva E.E., Evstafiev I.L., Tovpinec N.N., Malaya N.K., Kubyshkin A.V. Prevalence of causative agents of transmissible tick-borne rickettsiosis in the Crimean peninsula. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (3): 170-176 (in Russ.). DOI: https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-170-176

**For correspondence:** Gafarova M.T., MD, PhD Department of Infectious Diseases S.I.; e-mail: muniver@mail.ru

**Information about authors:**

Gafarova M.T., <https://orcid.org/0000-0002-4067-5825>;  
Bondarenko E.I., <https://orcid.org/0000-0002-4699-9548>;  
Maliy K.D., <https://orcid.org/0000-0002-6591-2719>;  
Alieva E.E., <https://orcid.org/0000-0002-0321-7913>;  
Evstafiev I.L., <https://orcid.org/0000-0003-1586-8411>;  
Tovpinec N.N., <https://orcid.org/0000-0003-1789-9633>;  
Malaya N.K., <https://orcid.org/0000-0002-3300-1590>;  
Kubyshkin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 10.07.2021  
Accepted 12.10.2021  
Published 25.03.2022

**Введение.** Риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) являются трансмиссивными природно-очаговыми зоонозами. Географическое распространение их инфекционных агентов связано с ареалом переносчиков (иксодовые клещи), которые являются основным резервуаром риккетсий в природе. К наиболее значимым представителям группы КПЛ в Российской Федерации относятся *R. sibirica* и *R. conorii*. Совершенствование методов лабораторной диагностики и идентификации способствует увеличению числа вновь выявляемых риккетсий группы КПЛ. К настоящему времени этот список дополнили 14 видов риккетсий: *R. aeschlimanii*, *R. africae*, *R. asiatica*, *R. felis*, *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. honei*, *R. hoogstraalii*, *R. japonica*, *R. massiliae*, *R. peacockii*, *R. raoultii*, *R. slovacica*, *R. tamurae* [1, 2].

Целесообразность изучения возбудителей группы КПЛ в Крыму обусловлена природно-климатическими особенностями региона, благоприятствующими формированию особых биогеоценозов, в которых активно функционируют природные очаги риккетсиозов, большим количеством прибывающего населения (туристов, отдыхающих) в сезон эпидемической активности очагов. Широкое видовое разнообразие возбудителей и их переносчиков на фоне происходящих климатических изменений и интенсивного антропогенного воздействия на природу обуславливает необходимость более подробного и глубокого изучения этой инфекционной патологии, особенно с учётом широкого круга патогенных видов риккетсий [2, 3]. На территории Крымского полуострова находятся природные очаги средиземноморской («марсельской») лихорадки, которую регистрируют здесь с 30-х годов XX века, в основном в прилегающих к морю зонах [4, 5]. Установлено, что на территории Крыма, как и в других регионах Европы, в очагах циркулирует *R. conorii*, переносчик и природный резервуар возбудителя – клещи *Rhipicephalus sanguineus* [3, 6]. В 1962 г. А. Л. Лейбман и Е. А. Ключкина [6] установили ведущее значение клещей *Rhipicephalus sanguineus* в существовании природных и антропогенных очагов марсельской

лихорадки на полуострове и заболеваемости населения этой инфекцией.

Применение современных молекулярно-генетических методов исследования позволяет значительно улучшить идентификацию патогенов в исследуемых переносчиках [7].

Цель работы – исследовать распространённость возбудителей КПЛ в различных природно-климатических зонах Крымского полуострова для оценки их потенциальной роли в заболеваемости местного и прибывающего населения. Задачи исследования – изучение распространённости клещей – переносчиков возбудителей, оценка их заражённости риккетсиями с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) и определение вида риккетсий.

**Материал и методы.** В период 2016–2018 гг. с апреля по сентябрь собрано и исследовано 1972 экземпляров клещей. Клещи собирались практически во всех районах (Краснопереконский, Раздольненский, Сакский, Черноморский, Красногвардейский, Джанкойский, Советский, Нижнегорский, Кировский, Ленинский, Белогорский, Симферопольский, Бахчисарайский) и некоторых городах полуострова (Евпатория, Керчь, Феодосия, Судак, Севастополь, Ялта, Алушта). Сборы проводили на флаг и волокушу, при осмотрах и при очёсах с крупного и мелкого рогатого скота, с собак и кошек. Определение вида собранных клещей проводили по морфологическим таблицам Н. А. Филипповой. Собранных клещей замораживали и хранили при -20°С. Материал для исследования методом ПЦР-РВ получали путём дезинтеграции каждой особи клеща индивидуально с проведением предварительной отмывки, как это описано ранее [8]. Полученные индивидуальные образцы суспензий клещей в объёме 100 мкл использовали для выделения суммарной ДНК/РНК с применением набора реагентов «РеалБест экстракция 100» согласно инструкции производителя (АО «Вектор-Бест», Новосибирск). Элюцию нуклеиновых кислот проводили в объёме 300 мкл соответствующего раствора, входящего в состав набора для выделения. Полученные образцы нуклеиновых

кислот анализировали с помощью ПЦР-РВ на наличие ДНК-маркёра риккетсий (консервативного участка гена *gltA*) с использованием коммерческого набора реагентов «РеалБест ДНК *Rickettsia species*» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск), в соответствии с рекомендациями производителя.

Постановку ПЦР-РВ проводили на амплификаторе с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени CFX96 (Bio-Rad, США) в Центре коллективного пользования Центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Положительные образцы с высокой нагрузкой ДНК риккетсий (Ct до 33-35 циклов в ПЦР-РВ) дополнительно амплифицированы по фрагментам генов *gltA*, *ompA*, *ompB*, *sca4*, с помощью праймеров (табл. 1), концентрация которых в реакционной смеси составляла 0,5 мкМ. Протокол амплификации: 1 стадия: 94° С – 1 мин; 2 стадия, 5 циклов: 94° С – 15 с, 62° С – 20 с, 72° С – 20 с; 3 стадия, 45 циклов: 94° С – 15 с, 60° С – 30 с, 72° С – 30 секунд. Разработка дизайна, анализ синтезированных праймеров и зондов, используемых в данных исследованиях, опубликованы ранее [9]. Олигонуклеотиды получены в лаборатории химического синтеза АО «Вектор-Бест».

Секвенирование полученных продуктов методом Сэнгера проводили на секвенаторе ABI Prism 3100 GeneticAnalyzer (AppliedBiosystems, США) в Центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН (г. Новосибирск). Полученные нуклеотидные последовательности сопоставляли с последовательностями риккетсий, представленные в международной базе данных NCBI с помощью приложения BLAST.

**Результаты.** Клещи идентифицированы по видам: *Haemaphysalis punctata* – 1062 особи (53,8%), *Ixodes*

*ricinus* – 337 особей (17,1%), *Rhipicephalus sanguineus* – 305 особей (15,5%), *Hyalomma marginatum* – 139 особей (7,0%), *Dermacentor marginatus* – 110 особей (5,6%), *Dermacentor reticulatus* – 19 особей (1,0%).

**Выявление генетических маркёров риккетсий в клещах различных видов.** Каждая особь из числа собранных клещей подвергалась спиртовой отмывке от примесей, индивидуальной гомогенизации и выделению суммарных нуклеиновых кислот (НК). С помощью ПЦР-теста «РеалБест ДНК *Rickettsia species*» выделенные пробы НК проанализированы на присутствие специфического ДНК-маркёра риккетсий. Генетический маркёр риккетсий (консервативный участок гена цитратсинтетазы, *gltA*), присущий для всех видов риккетсий группы КПЛ выявлен в 554 из 1972 (28,1%) суспензиях анализированных клещей, существенно различаясь по видам обследованных эктопаразитов (табл. 2).

**Результаты видовой идентификации риккетсий.** Определение видового состава риккетсий проводили в тех образцах суспензий гомогенизированных клещей, в которых содержалась ощутимая нагрузка ДНК-маркёра (участка гена *gltA*) возбудителя (Ct менее 35 цикла в ПЦР-РВ, что соответствует не менее 30 геном/эквивалентам риккетсий в 50 мкл реакции). ДНК риккетсий из положительных образцов подвергалась дополнительной амплификации по фрагментам генов: *gltA*, *ompA*, *ompB*, *sca4*, с длиной продуктов от 400 до 1100 п.н. (см. табл. 1). Секвенирование ДНК по всем четырём фрагментам генов удалось провести не для всех проб, в связи с чем, установление вида риккетсий в каждом конкретном образце проводилась как минимум по трём полученным последовательностям ДНК разных генов, сравнением их с последовательностями, представленными в базе данных GenBank. Из 554 суспензий клещей, содержащих ДНК риккетсий, удалось секвенировать и устано-

Таблица 1

Олигонуклеотидные праймеры, применяемые для амплификации и секвенирования участков генов риккетсий

Ген	Праймеры	Структура праймера (5'→3')	Длина ампликона (п.н.)
<i>gltA</i>	RS-F1	GCAAGTATTGGTGAGGATGTA	1153
	RS-R1	GTTCAGGGTCTTCGTGCA	
<i>ompA</i>	RSp-F14	GCGATAATGCTGAGTAGTAGC	316
	RSp-R2	GCAACAAGTTACCTCCCGTTA	
<i>ompB</i>	PKO-ompB-F1	TCTACAGCTACCATAGTAGCCA	815
	PKO-ompB-R2	TCCTGTAACGTTAAAGTCGGTA	
<i>sca4</i>	R.Sca4-F3	GCAGATGTTAGAAAAGGCAGTA	576
	R.Sca4-R1	TCCGCTGATGCCATAATAAGT	

Таблица 2

Выявление ДНК-маркёра риккетсий в различных видах клещей

Вид клеща	Количество исследованных клещей	Выявлен ДНК-маркёр риккетсий по участку гена цитратсинтазы ( <i>gltA</i> )	%
<i>Haemaphysalis punctata</i>	1062	334	31,5
<i>Ixodes ricinus</i>	337	47	13,9
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	305	62	20,3
<i>Hyalomma marginatum</i>	139	48	34,5
<i>Dermacentor marginatus</i>	110	58	52,7
<i>Dermacentor reticulatus</i>	19	5	26,3
Общее количество исследованных клещей	1972	554	28,1

Маркёры видов риккетсий в различных видах анализированных клещей (%)\*

Вид риккетсий	Удельный вес от общего количества (абс. число)	<i>Haemaphysalis punctata</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Hyalomma marginatum</i>	<i>Dermacentor marginatus</i>	<i>Ixodes ricinus</i>
<i>R. raoultii</i>	30,8 (37)	24,0 (6)	13,6 (3)	6,7 (1)	71,4 (20)	23,3 (7)
<i>R. aeschlimannii</i>	23,3 (28)	56,0 (14)	31,8 (7)	46,6 (7)	-	-
<i>R. slovaca</i>	13,3 (16)	20,0 (5)	4,5 (1)	6,7 (1)	28,6 (8)	3,4 (1)
<i>R. helvetica</i>	12,5 (15)	-	-	-	-	50,0 (15)
<i>R. conorii</i>	7,5 (9)	-	36,4 (8)	6,7 (1)	-	-
<i>R. monacensis</i>	6,7 (8)	-	-	6,7 (1)	-	23,3 (7)
<i>R. mongolotimonae</i>	4,2 (5)	-	4,5 (1)	26,6 (4)	-	-
<i>R. massiliae</i>	1,7 (2)	-	9,2 (2)	-	-	-
Всего	100 (120)**	25	22	15	28	30

Примечание. \* – В скобках указано количество идентифицированных риккетсий каждого вида; \*\* – видовые особенности риккетсий, обнаруженных в клещах *Dermacentor reticulatus*, выявить не удалось.

вить вид риккетсий в 120 (21,7%) случаях. В этих пробах ДНК клещей идентифицированы 8 видов риккетсий: *R. conorii* (9 образцов – 7,5%), *R. massiliae* (2 образца – 1,7%), *R. mongolotimonae* (5 образцов – 4,2%), *R. slovaca* (16 образцов – 13,3%), *R. aeschlimannii* (28 образцов – 23,3%), *R. monacensis* (8 образцов – 6,7%), *R. helvetica* (15 образцов – 12,5%), *R. raoultii* (37 образцов – 30,8%).

Установлено, что в Сакском районе обнаружена заражённость клещей риккетсиями трёх видов: *R. conorii* (1 образец – 0,4% от всех собранных в этом районе особей), *R. aeschlimannii* (2 образца – 0,9%), *R. mongolotimonae* (4 образца – 1,7%). В Симферопольском районе выявлены представители трёх видов риккетсий: *R. helvetica* (15 образцов – 8,6%), *R. monacensis* (8 образцов – 4,6%), *R. slovaca* (1 образец – 0,6%). Клещи в Белогорском районе содержали генетический материал двух видов риккетсий: *R. raoultii* (18 образцов – 21,4%) и *R. slovaca* (5 образцов – 6,0%). В Советском районе выявлены два вида риккетсий: *R. aeschlimannii* (2 образца – 22,2%), *R. slovaca* (4 образца – 44,4%). В Ленинском районе отмечено наибольшее видовое разнообразие: *R. raoultii* (16 образцов – 2,3%), *R. aeschlimannii* (24 образца – 3,4%), *R. slovaca* (5 образцов – 0,7%), *R. mongolotimonae* (1 образец – 0,1%).

Полученные результаты позволяют предполагать о распространённости на Крымском полуострове не только средиземноморской (марсельской) лихорадки, как считалось ранее, но и других риккетсиозов из группы КПЛ.

Распределения идентифицированных видов риккетсий в клещах различных видов приведено в табл. 3.

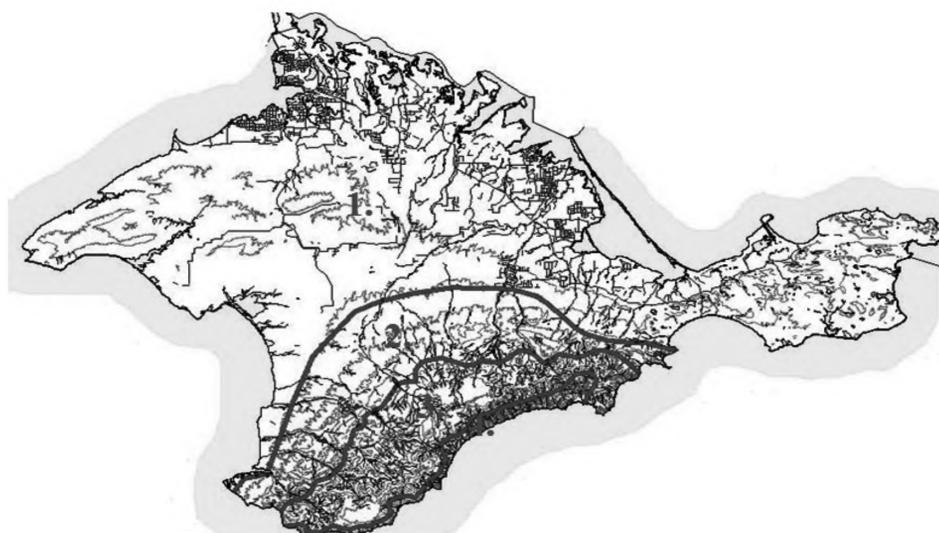
Наибольшее количество выявленных маркёров видов риккетсий относится к виду *R. raoultii* (см. табл. 3). Идентифицированы ДНК следующих видов: *R. aeschlimannii*, *R. slovaca*, *R. helvetica*. В разных видах клещей определялся свой спектр риккетсий. Наибольшее разнообразие (шесть видов из восьми выявленных) обнаружены в клещах *Rhipicephalus sanguineus* и *Hyalomma marginatum*. В клещах *Rhipicephalus sanguineus* чаще всего присутствовала ДНК *R. conorii* (36,4%) и *R. aeschlimannii* (31,8%). В клещах *Hyalomma marginatum* с наибольшей частотой определялись *R. aeschlimannii* (46,6%) и *R. sibirica subsp. mongolotimonae* (26,6%). В клещах *Ixodes ricinus* обнаружены риккетсии 4-х видов, из них наиболее часто *R. helvetica* (в 50% всех исследованных особей), *R. monacensis* и *R. raoultii* (каждый с частотой в 23,3%). В клещах *Haemaphysalis punctata*, доля которых в сбо-

рах наибольшая, обнаружено три вида риккетсий – *R. aeschlimannii* (50%), *R. raoultii* (24%), *R. slovaca* (20%). В клещах *Dermacentor marginatus* – *R. raoultii* (71,4%) и *R. slovaca* (28,6%).

Выявлена определенная специфичность связей видов клещей и риккетсий. В условиях Крыма зарегистрирована высокая избирательность в выборе хозяев риккетсиями *R. helvetica*, которые встречались только в клещах *Ixodes ricinus*, в других видах клещей данный вид риккетсий не обнаружен. Наименьшую избирательность по отношению к клещам демонстрируют риккетсии *R. raoultii* и *R. slovaca*, которые обнаружены практически во всех исследованных видах иксодовых клещей, при этом демонстрируя некоторое «предпочтение» клещам *Dermacentor marginatus*.

Для риккетсий вида *R. slovaca*, как и вида *R. aeschlimannii*, занимающего по распространённости второе место после *R. raoultii*, в роли успешных хозяев выступают клещи вида *Haemaphysalis punctata*. Размножаются *R. aeschlimannii* в клещах видов *Rhipicephalus sanguineus* и *Hyalomma marginatum*. Ещё большую специфичность по отношению к клещам демонстрируют *R. conorii*, встречаясь в основном в клещах *Rhipicephalus sanguineus*. Высокая специфичность обнаруживается у *R. sibirica subsp. mongolotimonae*, по отношению к *Hyalomma marginatum*. Возможна высокая избирательность *R. monacensis* по отношению к *Ixodes ricinus* и *R. massiliae* к *Rhipicephalus sanguineus*, но пока речь идёт о единичных случаях, и для большей определённости необходимо увеличение числа наблюдений.

Распределение клещей по природно-климатическим зонам Крымского полуострова. Выявленное видовое разнообразие риккетсий необходимо связывать не только с комплексом «клещи-переносчики – животные-прокормители», но и с наличием различных природно-климатических зон. Территория Крымского полуострова, несмотря на сравнительно небольшую площадь, чётко разделяется на различные природно-климатические зоны (см. рисунок), для которых характерны определённые и специфические зоопаразитарные комплексы мелких млекопитающих и иксодовых клещей: 1 – степная зона, включающие в себя северные, северо-западные, северо-восточные территории; 2 – лесостепная зона предгорного Крыма; 3 – горнолесная зона; 4 – южнобережная субтропическая зона. Для получения по возможности более определённой картины ареалов риккетсий и их приуроченности к конкретным паразитарным эко-



Природно-климатические зоны Крымского полуострова: 1 – степная зона; 2 – лесостепная зона предгорного Крыма; 3 – горно-лесная зона; 4 – южнобережная субтропическая зона.

Таблица 4

**ДНК-маркёр *Rickettsia species* в клещах различных природно-климатических зон (количество собранных клещей/количество клещей, содержащих геном риккетсий)**

Вид клещей	Степная зона			Лесостепная зона		Горно-лесная и южно-бережная зоны
	Северо-западная прибрежная степная часть	Центральная часть	Восточная прибрежная часть	Центральная часть	Западная часть	
<i>Haemaphysalis punctata</i>	291/31 (10,7%)	11/0	592/293 (49,5%)	154/4 (2,6%)	13/5 (38,5%)	1/1 (100%)
<i>Dermacentor marginatus</i>	2/0	3 /3 (100%)	2/2 (100%)	102/52 (51,0%)	1/1 (100%)	0/0
<i>Dermacentor reticulatus</i>	-	-	-	18/5 (27,8%)	1/0	0/0
<i>Hyalomma marginatum</i>	62/11 (17,7%)	6/5 (83,3%)	63/30 (47,6%)	3/1 (33,3%)	2/1 (50,0%)	3/0
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	16/2 (12,5%)	-	50/33 (66%)	134/8 (6,0%)	93/19 (20,4%)	2/0
<i>Ixodes ricinus</i>	3/1 (33,0%)	-	3/1(33,0%)	290/44 (15, 2%)	25/1 (4,0%)	16/0

системам, сбор клещей проводился в различных частях полуострова.

Доля (в %) присутствия ДНК-маркёра риккетсий в клещах одного и того же вида в различных районах Крыма различалась порой значительно (табл. 4). В северо-западной части степной зоны ДНК риккетсий в клещах *Haemaphysalis punctata* обнаружена в 10,7% случаев, в восточной части степной зоны – в 49,5%. В клещах *Hyalomma marginatum* этот показатель составил 17,7% в северо-западной части степной зоны и 47,6% в восточной части степной зоны; в клещах *Rhipicephalus sanguineus* – соответственно 12,5% и 66,0%.

Наиболее высокое содержание ДНК-маркёра риккетсий обнаружено в клещах в восточных районах степной зоны (Ленинский район) – 50,6%, в северо-западной части степной зоны эта величина составила 12,0%. Меньше всего ДНК-маркёр риккетсий выявлен в клещах, собранных в горнолесной и южнобережной зоне – в 4,5% собранных здесь клещей.

Наблюдается ряд особенностей географического распределения выявленных видов риккетсий (табл. 5). *R. helvetica* и *R. massiliae* выявлены только в лесостепных районах, там же в основном обнаруживаются *R. raoultii*, *R. conorii*, *R. monacensis*. *R. aeschlimannii* отмечены в основном в степной зоне, и только там обнаружена *R. sibirica subsp. mongolotimonaе*. *R. slovacа* распределена

между этими районами более равномерно. Распространённость различных видов риккетсий по территории Крымского полуострова в значительной мере обусловлена распространением клещей-носителей риккетсий. Ассоциированность *R. helvetica* и *R. raoultii* с клещами *Ixodes ricinus*, *R. conorii* с клещами *Rhipicephalus sanguineus* обуславливает их присутствие в лесостепных предгорных зонах, ассоциированность *R. aeschlimannii* с клещами *Haemaphysalis punctata* и *Hyalomma marginatum* ведёт к высокой встречаемости этого вида риккетсий в степных районах полуострова.

**Обсуждение.** Полученные предварительные данные по видовому составу риккетсий и встречаемости их в различных видах иксодовых клещей на территории природно-климатических зон Крымского полуострова перекликаются с данными, приводимыми исследователями Франции, Турции, Греции, Италии, Испании [3, 10 – 13].

Клещи *Rhipicephalus sanguineus* являются вектором для риккетсий *R. conorii* [14], что наблюдается и в нашем исследовании. В ходе исследования клещей *Rh. sanguineus*, собранных в г. Севастополь обнаружена одновременно ДНК двух видов риккетсий – *R. conorii conorii* и *R. massiliae* [9]. Выявление возбудителя в черте города объясняется возможностью горизонтальной трансмиссии риккетсий от заражённых клещей незаражённым при совместном нахождении и кормлении на

Распространённость риккетсий в различных климатогеографических зонах

Виды риккетсий	Степная зона	Лесостепная зона
<i>R. aeschlimannii</i>	27 (96,4%)	1 (3,6%)
<i>R. raoultii</i>	3 (8,1%)	34 (91,9%)
<i>R. slovacca</i>	9 (56,2%)	7 (43,8%)
<i>R. helvetica</i>	-	15 (100%)
<i>R. conorii</i>	1 (11,1%)	8 (88,9%)
<i>R. sibirica subsp. mongolotimoniae</i>	5 (100%)	-
<i>R. massiliae</i>	-	2 (100%)
<i>R. monacensis</i>	1 (12,5%)	7 (87,5%)

животных (собаках) с высоким уровнем риккетсиемии, контакт животных друг с другом [15].

Крымский полуостров находится в пределах природного ареала средиземноморской («марсельской») лихорадки, основным возбудителем которой считается *R. conorii*. На различных территориях средиземноморских природных очагов риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки в качестве возбудителей отмечены как подвиды, так и близкородственные виды риккетсий – *R. conorii conorii*, *R. conorii israelensis*, *R. aeschlimannii*, *R. slovacca*, *R. massiliae*, *R. sibirica subsp. mongolotimoniae* и другие [14].

Клинические случаи заболеваемости средиземноморской («марсельской») лихорадки на Крымском полуострове регистрируются ежегодно, со второй половины 90-х годов отмечается подъём заболеваемости [5, 16]. Наблюдаются выраженные особенности территориального распределения – случаи болезни встречались в основном в прибрежных западных и северо-западных степных районах, в меньшей степени в прибрежных районах южного и юго-восточного Крыма [5, 16]. В нашем исследовании основными видами клещей в северных степных районах являются *Haemaphysalis punctata*, у которых регистрируемый спектр геномов риккетсий не слишком обширен, в основном это *R. aeschlimannii* и *R. slovacca*. Наиболее патогенный вид *R. conorii*, в основном ассоциированный с клещами *Rhipicephalus sanguineus* [9], в этом районе выявляется редко (см. табл. 2, 3, 5). Наиболее часто клещи *Rhipicephalus sanguineus* регистрируются в западной части лесостепной зоны, где заболеваемость средиземноморской клещевой («марсельской») лихорадкой высока [16]. В наших результатах наиболее часто встречаются последовательности генов риккетсий *R. aeschlimannii*, *R. raoultii*, *R. slovacca*, которые составляют более 50% всех идентифицированных образцов. Наибольшее количество переносчиков возбудителей этих инфекций – клещей видов *Haemaphysalis punctata* и *Hyalomma marginatum* – собрано в степных районах, где заболеваемость риккетсиозами группы КПЛ либо невелика (Ленинский район) либо не диагностируется (Джанкойский и Нижнегорский районы). При сопоставлении с ранее описанной картиной распределения серологически подтверждённых случаев КПЛ [16] следует, что наиболее вирулентным возбудителем данного риккетсиоза в Крыму является *R. conorii*, другие же виды риккетсий либо не оказывают большого влияния на картину заболеваемости, либо инфицированность ими не приводит к выраженной клинической картине. О последнем свидетельствуют и данные литературы по заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в других регионах Европы. Для многих видов риккетсий, таких как

*R. aeschlimannii*, *R. slovacca*, *R. massiliae*, *R. raoultii*, *R. helvetica* показана их вирулентность для человека, но их вклад в картину заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в различных частях Средиземноморья значительно варьирует [17, 18]. Ввиду схожей клинической картины риккетсиозов с другими инфекциями, отсутствия современных лабораторных методов возникают трудности при проведении дифференциальной диагностики и соответственно проведении адекватного лечения [19].

**Заключение.** Полученные результаты являются шагом на пути изучения причин видового разнообразия риккетсий на практически изолированном Крымском полуострове. Одной из причин наблюдаемого разнообразия видов риккетсий может служить участие перелётных птиц, на роль которых в распространении риккетсий и их векторов неоднократно указывалось в опубликованных данных [3, 20, 21]. С одной стороны, территория Крыма является практически «островной», так как довольно изолирована от материковой части, особенно южная, горнолесная часть полуострова. Именно это является основной причиной того, что многие виды иксодовых клещей, как и животных и птиц – их основных прокормителей, имеют ареалы, ограниченные и изолированные на протяжении тысячелетий от основной части видовых ареалов. С другой стороны, северные районы Крыма, а именно Присивашье, лежит на пути перелётных маршрутов разнообразных мигрирующих видов птиц. Приведённые факторы могут служить, как объяснением полученных результатов исследований, так и основанием для поиска других видов риккетсий, несомненно, присутствующих в многообразных природных экосистемах Крымского полуострова. Полученная впервые для региона картина распространения различных видов риккетсий на территории полуострова, причинно-следственная оценка их значения в патологии человека, требует продолжения данного направления исследований.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 9-14, 17, 18, 20, 21  
 см. REFERENCES)

1. Рудаков Н.В., Рудакова С.А. Клещевые трансмиссивные инфекции Сибири: практическое руководство. Омск: ООО Издательский центр «Омский научный вестник»; 2019.
2. Карташов М.Ю. Встречаемость и генетическое разнообразие риккетсий в клещах в некоторых регионах России. Дис.... канд. биол. наук. Новосибирск; 2017.
4. Алымов А.Я. Марсельская лихорадка. *Советская Медицина*. 1939; 13: 30-3.
5. Гафарова М.Т. Марсельская лихорадка (эпидемиология, клиника, диагностика). Симферополь: Тарпан; 2004.

MICROBIOLOGY

6. Ключкина Е.А. О клеще *Rhipicephalus sanguineus Latreille* – переносчике марсельской лихорадки. *Журнал микробиологии*. 1966; (11): 146.
7. Шутикова А.Л., Леонова Г.Н., Лубова В.А. Молекулярно-генетический мониторинг как основа современного эпидемиологического надзора за клещевыми инфекциями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (7): 424-9.
8. Бондаренко Е.И., Щучинова Л.Д., Ечешева А.Б., Вараксин Н.А., Офицеров В.И. К вопросу об условиях хранения клещей, используемых для обнаружения генетического материала патогенных микроорганизмов. *Новости «Вектор-Бест»*. 2020; 3 (97): 2-7.
15. Еремеева М.Е., Шпынов С.Н., Токаревич Н.К. Современные подходы к лабораторной диагностике риккетсиозов. *Инфекция и иммунитет*. 2014; 4 (2): 113-34.
16. Малый К.Д., Андрухив И.Ю., Товпинец Н.Н., Кириченко В.Е., Дегтярева А.А., Альянаки Л.Н. и др. Марсельская лихорадка. Динамика заболеваемости в Крыму по данным лабораторной диагностики. *Таврический медико-биологический вестник*. 2000; 3-4: 240-3.
19. Зверева Н.Н., Сайфуллин М.А., Карань Л.С., Ларичев В.Ф., Бутенко А.М., Базарова М.В. и др. Случай клещевой пятнистой лихорадки у ребенка, прибывшего из Крыма. *Детские инфекции*. 2018; 17 (4): 69-72.
- used to detect the genetic material of pathogenic microorganisms. *Novosti «Vector-Best»*. 2020; 3 (97): 2-7. (in Russian)
9. Alieva E.E., Bondarenko E.I., Maliy K.D., Shvalov A.N., Verbenets E.A., Gafarova M.T. The role of *Rhipicephalus sanguineus* mites parasitizing on dogs in the spread of tick-borne rickettsiosis pathogens in Sevastopol. *New Microbes New Infect.* 2020; 36: 100704.
10. Keskin Ad. Bursali A., Keskin Ay., Tekin S. Molecular detection of spotted fever group rickettsiae in ticks removed from humans in Turkey. *Ticks Tick-borne Dis.* 2016; 7 (5): 951-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis>. – 2016.04.015.
11. Kachrimanidou M., Souliou E., Pavlidou V. Antoniadis A., Papa A. First detection of Rickettsia slovaca in Greece. *Exp. Appl. Acarol.* 2010; 50: 93-6. DOI 10.1007/s10493-009-9283-x.
12. Tomassone L., Portillo A., Nováková M., de Sousa R., Oteo J.O. Neglected aspects of tick-borne rickettsioses *Parasites & Vectors*. 2018; 11: 263. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2856-y>.
13. Herrador Z., Fernandez-Martinez A., Gomez-Barroso D., LeoÂn I., Vieira C., Muro A. et al. Mediterranean spotted fever in Spain, 1997-2014: Epidemiological situation based on hospitalization records. *PLoS ONE*. 2017; 12(3): 0174745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174745>.
14. Brouqu P., Parola P., Fournier P.E., Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2007. 49: 2-12.
15. Eremeeva M.E., Shpynov S.N., Tokarevich N.K. Modern approaches to laboratory diagnosis of rickettsial diseases. *Infektsiya i immunitet*. 2014; 4(2):113-34. (in Russian)
16. Maliy K.D., Andrukhiv I.Yu., Tovpinets N.N., Kirichenko V.E., Degtyareva A.A., Alyanaki L.N. et al. Marseilles fever. Morbidity dynamics in Crimea according to laboratory diagnostics data. *Tavrishesky mediko-biologicheskiy vestnik*. 2000. 3-4: 240-3. (in Russian)
17. Walker D.H., Valbuena G.A., Olano J.P. Pathogenic Mechanisms of Diseases Caused by Rickettsia. 2003. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 990: 1-11.
18. Oteo J.A., Portillo A. Tick-borne rickettsioses in Europe. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2012; 3 (5-6): 271-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.035>.
19. Zvereva N.N., Saifullin M.A., Karan L.S., Bazarova M.V., Saifullin R.F., Smetanina S.V. The Case of Tick-borne Spotted Fever in a Child Arriving from the Crimea. *Detskie Infektsii*. 2018; 17(4):69-72. (in Russian)
20. Socolovschi C., Reynaud P., Kernif T., Raoult D., Parola P. Rickettsiae of spotted fever group, *Borrelia valaisiana*, and *Coxiella burnetii* in ticks on passerine birds and mammals from the Camargue in the south of France. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3: 355-60.
21. Leblebicioglu H., Eroglu C., Erciyas-Yavuz K., Hokelek M., Acici M., Yilmaz H. Role of Migratory Birds in Spreading Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Turkey. 2014. *Emerging Infectious Diseases*. 2014; 20 (8): 1331-4.

REFERENCES