

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Лубова В.А.¹, Леонова Г.Н.¹, Шутикова А.Л.¹, Бондаренко Е.И.²

ИНДИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ КУ-ЛИХОРАДКИ НА ЮГЕ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова» Министерства высшего образования и науки РФ, 690087, Владивосток, Россия;

²АО «Вектор-Бест», 630559, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Ку-лихорадка (коксиеллёз) – широко распространенное в мире природно-очаговое заболевание. Возбудитель коксиеллёза – грамотрицательная бактерия Coxiella burnetii, отличающаяся высокой контагиозностью и низкой вирулентностью. Основными переносчиками C. burnetii являются иксодовые клещи, которые в антропоургических очагах питаются на домашних и сельскохозяйственных животных.

Для решения вопроса о возможной циркуляции C. burnetii на территории Приморского края исследовано 334 образца разнообразного природного материала, собранного в весенне-летний период 2019 г. В окрестностях Владивостокского городского округа (на о. Рейнеке) генетические маркеры C. burnetii выявлены в 19,7% у всех видов клещей. В Ханкайском районе ДНК коксиелл чаще (в 6,3%) выявляли в клещах D. silvarum, в клещах I. persulcatus и H. japonica обнаружено по 1 случаю. Из 56 экз. иксодовых клещей, присосавшихся к людям, ДНК C. burnetii выявлена в клещах I. persulcatus в 38,8%, H. concinna – в 14,3%. В сыворотках крови сельскохозяйственных животных детектировано наличие коксиелл у овец в 3-х образцах, у лошадей – в двух. Секвенирование полученных последовательностей показало в сыворотках крови животных наличие C. burnetii. В клещах, присосавшихся к людям, в 6 образцах идентифицированы C. burnetii, в 6 образцах – Coxiella-like endosymbiont. Представленные результаты свидетельствуют о циркуляции C. burnetii на территории Приморского края. Для получения более полной характеристики сложившейся эпидемиологической ситуации необходимо провести более широкие исследования природного материала и крови людей с подозрением на Ку-лихорадку.

Ключевые слова: *Coxiella burnetii; Coxiella-like endosymbiont; Ку-лихорадка; ПЦР-РВ; диагностика; Приморский край.*

Для цитирования: Лубова В.А., Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Бондаренко Е.И. Индикация возбудителя Ку-лихорадки на юге Дальнего востока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 724-728.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-724-728>

Lubova V. A.¹, Leonova G. N.¹, Shutikova A. L.¹, Bondarenko E. I.²

INDICATION Q FEVER PATHOGEN IN THE SOUTH OF FAR EAST

¹Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia;

²АО «Vector-Best», 630559, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

Q fever (coxiellosis) is a widespread natural focal disease in the world. The causative agent of coxiellosis is the gram-negative bacterium Coxiella burnetii, which is highly contagious and low virulence. The main carriers of C. burnetii are ixodid ticks, which feed on domestic and farm animals in anthropurgic foci. To address the possible circulation of the Q fever pathogen in the territory of the Primorsky Territory, 334 samples of various natural material collected in the spring-summer period of 2019 were studied. In the vicinity of the Vladivostok (on Reineke island), genetic markers of C. burnetii were detected in 19.7% of all tick species. In the Khankaish region, coxiella DNA was detected more often (in 6.3%) in ticks of D. silvarum, in ticks of I. persulcatus and H. japonica, 1 case was detected. From 56 copies. ixodid ticks sucked to humans, C. burnetii DNA was detected in ticks of I. persulcatus in 38.8%, H. concinna – in 14.3%. In the serum of farm animals, the presence of coxiella in sheep in 3 samples was detected, in horses – in two. Sequencing of the obtained sequences showed the presence of the pathogen C. burnetii in the blood serum of animals. The ticks have stuck to people in 6 samples were identified C. burnetii and 6 samples – Coxiella-like endosymbiont. The presented results indicate the circulation of the causative agent of Q fever in the territory of the Primorsky Territory. To obtain a more complete description of the current epidemiological situation, it is necessary to conduct more extensive studies of natural material and blood of people with suspected Q fever.

Key words: *Coxiella burnetii; Coxiella-like endosymbiont; Q fever; PCR-RV; diagnostics; Primorsky Territory.*

For citation: Lubova V.A., Leonova G.N., Shutikova A.L., Bondarenko E.I. Indication Q fever pathogen in the south of Far east. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (11): 724-728 (in Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-724-728>

For correspondence: *Lubova V.A.*, junior researcher of natural-focal transmissible infections laboratory; e-mail: valeri_priority@mail.ru

Information about authors:

Lubova V.A., ORCID: <https://0000-0002-4290-6164>;

Shutikova A.L., ORCID: <https://0000-0002-6803-0439>;

Leonova G.N., ORCID: <https://0000-0001-5387-1127>;

Bondarenko E.I. ORCID: <https://0000-0002-4699-9548>.

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 08.05.2020

Accepted 19.06.2020

Для корреспонденции: Лубова Валерия Александровна, мл. науч. сотр. лаб. природно-очаговых трансмиссивных инфекций; e-mail: valeri_priority@mail.ru

Возбудитель кокциеллёза – грамотрицательная бактерия *Coxiella burnetii* с внутриклеточным механизмом жизнедеятельности, отличающаяся низкой вирулентностью, но высокой контагиозностью (при аэрогенном пути инфицирования даже единичная бактерия может привести к заболеванию) [1].

На территории Российской Федерации за весь период изучения показатель заболеваемости колебался от 1,0 на 100 тыс. населения в 1957 г. до 0,02 – в 2014 г. По данным Федерального центра гигиены и эпидемиологии в 2018 г. абсолютное число заболевших составило 110 случаев [2]. В последние годы кокциеллёз регистрируется на 50 административных территориях РФ. При этом наибольшее количество выявленных случаев Кулихорадки приходится на Южный Федеральный округ [3]. В Приморском крае с 2009 г. по настоящее время официально не зарегистрировано ни одного случая заболевания кокциеллёзом [4], но при этом исследования сельскохозяйственных животных и клещей, собранных с растительности в этот период, не проводились.

Основными резервуарами кокциелл в природе являются иксодовые клещи, а так же их прокормители – теплокровные животные (мелкие грызуны, крупные и мелкие копытные). Клещи при питании на прокормителе выделяют экскременты, содержащие кокциеллы, которые рассеиваются воздушными потоками, контаминируя окружающую среду [5]. В антропоургических очагах основным резервуаром и источником инфекции для человека являются домашние животные (крупный рогатый скот, овцы, лошади, козы, кошки, собаки и другие) [6]. Заражение сельскохозяйственных животных в очагах может происходить как от инфицированных клещей во время выпаса, так и при совместном содержании здоровых и больных животных. У домашних животных кокциеллёз часто протекает как латентная инфекция, обостряющаяся в период беременности и родов [7]. Особую опасность в плане заражения для скота и для человека представляют заражённые возбудителем плацента и околоплодная жидкость. Трансмиссивный путь заражения человека маловероятен [7], тем не менее, исследования образцов смывов, взятых у пациентов с места присасывания клеща, в Республике Алтай в 2017 г. показали наличие генетического маркера *C. burnetii* у двух лихорадящих больных. Результаты секвенирования выделенной ДНК по гену *IS1111* подтвердило данные ПЦР-анализа о наличии ДНК-маркера кокциеллёза [8]. В антропоургических очагах человек может инфицироваться алиментарным путём (при употреблении инфицированного молока, заражённой воды), воздушно-пылевым (при вдыхании пыли) или контактным (через слизистые оболочки или поврежденные участки кожи) [7, 9]. Для кокциеллёза характерна весенняя сезонность. Наибольшее число случаев заболевания регистрируется в марте-мае, как раз во время массового отёла и окота животных. Среди заболевших кокциеллёзом чаще встречаются мужчины, занятые сельскохозяйственными работами, животноводством, убоем, обработкой шкур и шерсти животных, птичьего пуха и т. д. [9].

Кокциеллёз характеризуется полиморфизмом клинических проявлений [10]. В связи с различием путей передачи возбудителя человеку, разнообразием симптомов, отсутствием патогномичных признаков заболевания при кокциеллёзе для подтверждения диагноза требуется использование комплекса методов лабораторной диагностики.

Методами диагностики кокциеллёза являются иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Цель работы – показать возможную циркуляцию опасной для человека *C. burnetii* на приграничных и прилегающих к Владивостоку территориях Приморского края.

Материал и методы. Для решения вопроса о возможной циркуляции *C. burnetii* на территории Приморского края исследовано 334 образца разнообразного природного материала, собранного в весенне-летний период 2019 г. в окрестностях с. Новокачалинск (Ханкайский район), на о. Рейнеке (Владивостокский городской округ). Иксодовых клещей с растительности собирали на флаг стандартным способом согласно методическим указаниям [11]. На о. Рейнеке собрано 71 экз., в Ханкайском районе – 86 экз. иксодовых клещей.

В Ханкайском районе, используя живоловки, отловлены 34 экз. мелких грызунов. Ловушки выставляли в вечернее время в местах травянисто-леспещиной границы между сельскохозяйственными полями прямой линией с интервалом 5 метров, [12]. Для исследования у грызунов забирали внутренние органы (мозг, сердце, печень, селезёнка).

При содействии КГБУ «Хорольская ветеринарная СББЖ «Ханкайская станция по борьбе с болезнями животных»» собраны 52 пробы крови от крупного и мелкого рогатого скота.

Исследованы 56 экз. иксодовых клещей, присосавшихся к людям и 35 образцов сывороток крови людей, пострадавших от укусов клеща на территории, прилегающей к г. Владивостоку.

Клещей промывали в 96%-м этаноле, затем в физиологическом растворе. Образцы помещали в пробирки, добавляли по 250 мкл охлажденного раствора для подготовки образцов (РПО) из набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот «РеалБэст экстракция 100» АО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Клещей измельчали на гомогенизаторе TissueLyser LT (Qiagenhilden, Германия).

Выделение нуклеиновых кислот исследуемых образцов проводили с использованием набора реагентов «РеалБэст экстракция 100», согласно инструкции производителя.

ПЦР в режиме реального времени выполняли с помощью экспериментальной лабораторной версии тест-системы «Coxbur-1», представляющей набор реагентов для обнаружения ДНК-маркера *C. burnetii* (фрагмент генома *IS1111*) методом ПЦР с гибридиционно-флуоресцентным учётом результатов, разработанной АО «Вектор-Бест» (Новосибирск). В состав теста «Coxbur-1» входят лиофильно высушенные ПЦР-смеси, содержащие праймеры Cbur-IS-F5 (AGAGTCTGTGGTTAAAAGCAC), Cbur-IS-R2 (TATTCGCTAACGCCACACA), зонд Cbur-IS-Z2(ROX-TCATTGAGCGCCGCGGAATGAATCG-(BHQ-2)), с конечной концентрацией в реакции 0,5 мкМ и 0,25 мкМ, соответственно. Использована программа амплификации: 1 стадия: 50° С – 2 мин; 2 стадия: 95° С – 2 мин; 3 стадия: 50 циклов (94° С – 10 сек, 60° С – 20 сек). Измерение флуоресценции проводилось при температуре 60° С. Все постановки реакции сопровождалось отрицательными и положительными контролями. В качестве набора сравнения использована тест-система «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва) согласно инструкции производителя. Амплификация

положительных образцов ДНК *C. burnetii* по участку гена *IS1111* проводили с использованием пары праймеров РКО-Cbur-F4 (AAGAGTCTGTGGTAAAGCA) и РКО-Cbur-R2 (TATTCGCTAACGCCACACA), обеспечивающих наработку ампликона длиной 390 п. нк. Амплификацию ДНК *Coxiella-like endosymbiont* по участку гена *16SrRNA* размером 419 п. нк. осуществляли с использованием комбинации праймеров С-Lk-F2 (TCGGGTTGTAAAGCACTTTC) и С-Lk-R5 (AGCTAGTTCTCATCGTTGAC). Для амплификации ДНК-фрагментов микроорганизмов использовали 45 мкл выделенных из образца суммарной ДНК при концентрации праймеров 0,5 мкМ. Использована программа амплификации: 1 стадия: 94° С – 1 мин; 2 стадия 5 циклов: 45° С – 15 сек., 62° С – 20 сек., 72° С – 20 сек.; 3 стадия 45 циклов: 94° С – 15 сек., 60° С – 30 сек., 72° С – 30 сек.

Для проведения электрофоретического анализа полученных ампликонов применяли 1,5% агарозный гель. Секвенирование проводилось по методу Сэнгера на секвенаторе ABIPrism 3100 GeneticAnalyzer (Applied-Biosystems, США) в Центре коллективного пользования «Геномика» СОРАН (г. Новосибирск). Полученные в результате секвенирования данные сопоставляли с нуклеотидными последовательностями ДНК коксиилл, представленными в международной базе данных NCBI с помощью приложения BLAST.

Результаты и обсуждение. Видовой состав иксодовых клещей о. Рейнке представлен *I. persulcatus* (26,8%), *H. concinna* (56,3%), *H. japonica* (8,5%), *D. silvarum* (8,5%) (табл. 1). С помощью экспериментального ПЦР-теста «Сохбур-1» установлено, что генетический маркер *C. burnetii*, фрагмент генома *IS1111*, выявляли у всех видов клещей, что составило 19,7% положительных результатов. ДНК-маркер коксиилл чаще детектировали в клещах *H. concinna* – 27,5% (в 11 из 40 случаев). В суспензиях остальных видов клещей генетический маркер выявлен по одному случаю (см. табл. 1).

В Ханкайском районе из 86 исследованных клещей, собранных с растительности, на долю *I. persulcatus* пришлось 2,3%, *H. concinna* – 1,2%, *H. japonica* – 3,5%. Клещи *D. silvarum* составили самую многочисленную группу – 93% (80 из 86). ДНК коксиилл чаще (в 6,3%) выявляли в клещах *D. silvarum*, в клещах *I. persulcatus*, *H. japonica* – по 1 случаю. В клещах *H. concinna* генетический маркер *C. burnetii* не обнаружен. Общая заражённость клещей коксииллами на данной территории составила 8,1% (7 случаев) (см. табл. 1).

Из 56 образцов иксодовых клещей, присосавшихся к людям в 2019 г., видовой состав представлен в

следующем соотношении: *I. persulcatus* – 87,5%, *H. concinna* – 12,5%. С помощью экспериментального теста «Сохбур-1» ДНК-маркер выявлен в клещах *I. persulcatus* в 38,8% (в 19 из 49), у представителей *H. concinna* в одном случае (см. табл. 1).

В положительных образцах, содержащих исследуемую ДНК-мишень возбудителя, при постановке ПЦР-РВ значения Ct варьировали от 34 до 38 цикла, что свидетельствовало о невысокой нагрузке ДНК коксиилл в исследуемых суспензиях клещей.

В качестве диагностического набора сравнения использован ПЦР-тест «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL», с помощью которого показано, что только в 14 пробах из 20 положительных клещей, снятых с людей после присасывания, присутствовала ДНК *C. burnetii*. С помощью комбинации праймеров РКО-Cbur-F4, РКО-Cbur-R2 и секвенирования ДНК по фрагменту генома *IS1111* подтверждено присутствие *C. burnetii* в 6 образцах, в которых ДНК-маркеры *C. burnetii* выявлены обоими тестами. Другие же 8 положительных образцов, результаты которых получены с помощью обоих тестов, не удалось секвенировать из-за низкой нагрузки возбудителя в пробах.

Полученные в результате секвенирования последовательности в 100% идентичны последовательностям *C. burnetii* str. RSA439 (CP040059), str. 2014-PE-15890 (CP032542), str. 18430 (CP014557) и другим последовательностям этого вида, представленным в базе данных NCBI. В результате секвенирования по участку гена *16SrRNA* получены дополнительные данные о том, что в других 6 из 20 положительных пробах, обследованных с помощью теста «Сохбур-1» выявлен ДНК-маркер не *C. burnetii*, а коксиилла-подобного микроорганизма (*Coxiella-like endosymbiont*). Полученные нами и секвенированные с помощью комбинации праймеров С-Lk-F2 и С-Lk-R5 последовательности ДНК в 98,6% идентичны *Coxiella-like endosymbiont isolate Iran/1943/49* (MN612068). Эти образцы ($n=6$), содержащие ДНК коксииллоподобные микроорганизмы, показали отрицательные значения ПЦР-РВ при использовании набора сравнения «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL», попытки секвенировать их по фрагменту генома *IS1111 C. burnetii* не удалось. В клещах, присосавшихся к людям на территории Приморского края, детектированы как ДНК возбудителя коксииллеза – *C. burnetii*, так и ДНК *Coxiella-like endosymbiont* (см. табл. 2).

До настоящего времени в литературе нет сведений о причастности коксиилла-подобных бактерий к случаям заболевания у людей, известно, что возбудителем летальной инфекции у домашних птиц является *Coxiella-like endosymbiont* [13].

Таблица 1

Видовой состав иксодовых клещей на различных территориях Приморского края и выявление в них генетического маркера коксиилл с помощью экспериментального теста «Сохбур-1»

Вид иксодовых клещей	о. Рейнке				Ханкайский район				Пригородная территория Владивостока (клещи, присосавшиеся к людям)			
	Всего образцов		ДНК <i>C. burnetii</i>		Всего образцов		ДНК <i>C. burnetii</i>		Всего образцов		ДНК <i>C. burnetii</i>	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
<i>Ixodes persulcatus</i>	19	26,8	1	5,3	2	2,3	1		49	87,5	19	38,8
<i>Haemaphysalis concinna</i>	40	56,3	11	27,5	1	1,2	0		7	12,5	1	14,3
<i>Haemaphysalis japonica</i>	6	8,5	1	16,7	3	3,5	1	33,3	0		0	
<i>Dermacentor silvarum</i>	6	8,5	1	16,7	80	93	5	6,3	0		0	
Всего	71		14	19,7	86		7	8,1	56		20	35,7

ПЦР-индикация генетических маркёров *Coxiella burnetii* и *Coxiella-like endosymbiont* в клещах, присосавшихся к людям в лесной зоне пригорода Владивостока

Пары сравнения использованных тестов	Комбинация результатов ПЦР-анализа	Количество образцов сравнения	Результаты секвенирования
«Coxburg-1» «АмплиСенс <i>Coxiella burnetii</i> -FL»	положительный положительный	14	В 6-ти образцах выявлена <i>Coxiella burnetii</i> (фрагмент генома IS1111)
«Coxburg-1» «АмплиСенс <i>Coxiella burnetii</i> -FL»	положительный отрицательный	6	В 6-ти образцах выявлена <i>Coxiella-like endosymbiont</i> (фрагмент генома 16SrRNA)
«Coxburg-1» «АмплиСенс <i>Coxiella burnetii</i> -FL»	отрицательный отрицательный	36	0

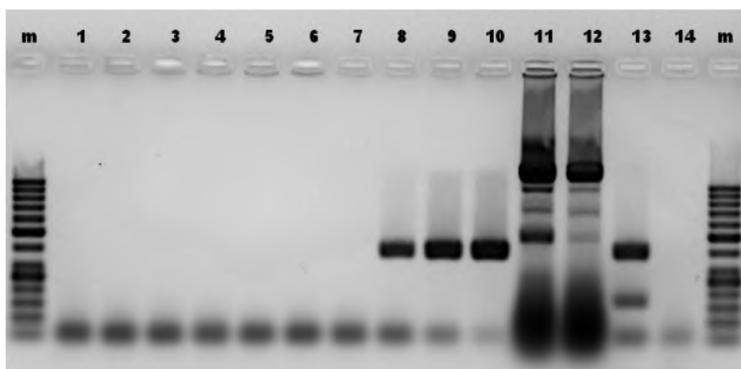
Таблица 3

Детекция генетического маркёра *C. burnetii* в сыворотках крови домашних животных

Сельскохозяйственные животные	Всего образцов, абс.	ДНК <i>Coxiella burnetii</i> , абс./%
Овцы	10	3/30
Лошади	5	2/40
Коровы	37	0
Всего	52	5/9,6

Из 34 экз мелких грызунов, отловленных в Ханкайском районе, видовой состав представлен *Apodemus agrarius* – 79,4% (27 особей), *Apodemus peninsulae* – 5,9% (2 особи), *Microtus fortis* – 14,7% (5 особей). С помощью обеих тест-систем в суспензиях органов диких грызунов ДНК *C. burnetii* не обнаружена.

Исследование сывороток крови сельскохозяйственных животных с помощью экспериментальной тест-системы «Coxburg-1» показало наличие ДНК-маркёра коксиелл в 3 из 10 образцах сывороток обследованных овец, в 2 из 5 образцах лошадей. В сыворотках крови коров (37 проб) ДНК *C. burnetii* не обнаружена (см. табл. 3). Подобные результаты заражённости скота в хозяйствах Омской области получены в период 1997-2007 гг., в среднем этот показатель достигал 9,3±1,0% [14].



Электрофореграмма ампликонов по участку гена IS1111 длиной 390 п.нк. *C. burnetii*.

Дорожка № 8 – ампликон соответствующей длины наработанный с образца ДНК, выделенной из сыворотки крови лошади № 1; дорожки № 9 и 10 – наработка ампликона с образца ДНК, выделенной из сыворотки лошади № 2 в двух повторах; № 13 – “К+”, № 14 – “К-”, сыворотка крови коровы. С № 1 по № 7, а так же дорожки № 11 и № 12- отрицательные результаты с образцами ДНК, выделенными из сывороток других животных.

В 35 образцах крови людей, имеющих в анамнезе укус клеща, возбудитель коксиеллёза не выявлен.

Дополнительно проведённые исследования сельскохозяйственных животных с помощью диагностического набора «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL» подтвердили наличие ДНК *C. burnetii* в сыворотках крови овец и лошадей. Результаты ПЦР-анализа, полученные с помощью теста «Coxburg-1» и «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-FL» показали одинаковые результаты. Использование комбинации праймеров РКО-Cburg-F4 и РКО-Cburg-R2 обеспечило наработку ампликонов участка генома IS1111 *C. burnetii* длиной 390 п. нк. в пробах ДНК, выделенных из двух положительных образцов сывороток лошадей (см. рисунок).

Наработанные ампликоны успешно секвенированы. Анализ полученных последовательностей с помощью приложения BLAST показал, что они соответствуют последовательностям IS1111 *C. burnetii*, и в частности полностью гомологичны последовательности *C. burnetii* str. *Namibia* (CP007555).

Случаи заражения населения после укуса клеща на территории РФ, выявление *C. burnetii* и *Coxiella-like endosymbiont* в клещах, присосавшихся к людям в лесной зоне пригорода Владивостока, свидетельствуют о возможной трансмиссивной передаче возбудителя от клеща к человеку на территории юга Дальнего Востока.

Полученные в результате проведённого пилотного исследования иксодовых клещей и сельскохозяйственных животных свидетельствуют о выявлении *C. burnetii* на территории Приморского края. В первую очередь, это касается Ханкайского района, приграничных зон КНР, что указывает на необходимость проведения дополнительных исследований природного материала для более точной и полной оценки сложившейся эпидемиологической ситуации по распространению *C. burnetii*. Особое внимание следует уделить приграничным зонам, густонаселённым территориям и местам массового отдыха населения. Выполненные исследования пока не отвечают на вопрос, являются ли фермерские хозяйства антропоургическими очагами Ку-лихорадки, или же в Приморском крае существуют природные очаги этого заболевания, в которых клещи принимают непосредственное участие. Последующие исследования необходимо направить на определение в крови ДНК-маркёров *C. burnetii* у работников ферм, где содержатся инфицированные животные, на выявление возможных случаев заболевания у людей.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки. Работа выполнена в рамках научного проекта (0545-2019-0007) Министерства науки и высшего образования РФ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лобан К.М., Лобзин Ю.В., Лукин Е.П. Риккетсиозы человека: руководство для врачей. СПб: Элби; 2002.
2. Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4: 49-54.
3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019. Available at: <https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf>.
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Приморском крае в 2018 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2018. Available at: http://25.rospotrebnadzor.ru/c/document_library/get_file?uuid=66d89a32-b813-45f4-926a-0224e04a5f4a&groupId=10156.
5. Фрейлихман О.А., Панферова Ю.А., Сайнес Т.В., Шапарь А.О., Токаревич Н.К. Инфицированность клещей возбудителями инфекционного клещевого боррелиоза и лихорадки Ку на территории Санкт-Петербурга. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (3):118.
6. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука; 2015.
7. Дайтер А.Б., Рыбакова Н.А., Токаревич Н.К. Эпидемическая проекция внутривисцеральных очагов лихорадки Ку. *Журнал микробиологии*. 1988; 11: 51-6.
8. Шучинова Л.Д., Бондаренко Е.И. Случаи заражения людей Ку-лихорадкой трансмиссивным путем. В кн.: Материалы XI ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием (1-3 апреля 2019 г.). М.; 2019.
9. Малов В.А., Горобченко А.Н., Гюлазян Н.М., Немилостива Е.А., Каншина Н.Н., Нехаев С.Г. и др. «Неясная лихорадка»: восемьдесят лет спустя. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22 (4): 200-7.
10. Малов В.А., Пономарев С.В., Тарасевич И.В., Кубенский Е.Н., Горобченко А.Н., Пантюхина А.Н., и др. Описание случая тяжелого течения Q-лихорадки. *Терапевтический архив*. 2015; 11: 84-91.
11. МУ 3.1.3012-12 Сбор, учёт и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011.
12. МУ 3.1.1029-01 Отлов, учёт и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекций. Методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2002.
13. Бондаренко Е.И., Кравцов В.Ю., Соловьёв А.И., Ракин А.И., Тимофеев Д.И., Швалов А.Н., и др. Молекулярно-генетическое исследование аргасовых клещей *Ornithodoros papillipes* из коллекции академика Е.Н. Павловского. *Новости «Вектор-Бест»*. 2020; 1 (95): 7-15.
14. Красиков А.П., Рудаков Н.В. Риккетсиозы, коксиеллёз и анаплазмозы человека и животных. Омск: Омский научный вестник; 2013.

REFERENCES

1. Loban K.M., Lobzin Y.V., Lukin E.P. Human Rickettsioses: A Guide for Physicians. [Rikketsiozy cheloveka: rukovodstvo dlya vrachej]. St. Petersburg: Alby; 2002. (in Russian)
2. Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Y., Ezhlova E.B., Demina Y.V. The incidence of Q fever in the Russian Federation and European countries: realities and problems. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2015; 4: 49-54. (in Russian)
3. On the state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: State report. Moscow: Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka; 2019. Available at: http://25.rospotrebnadzor.ru/c/document_library/get_file?uuid=66d89a32-b813-45f4-926a-0224e04a5f4a&groupId=10156 (accessed 7 April 2020). (in Russian)
4. On the state of the sanitary-epidemiological well-being of the population in the Primorsky Territory in 2018: State report. Moscow: Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka]. 2018. Available at: http://25.rospotrebnadzor.ru/c/document_library/get_file?uuid=66d89a32-b813-45f4-926a-0224e04a5f4a&groupId=10156 (accessed 7 April 2020). (in Russian)
5. Freylikhman O.A., Panferova Y.A., Saynes T.V., Shapar' A.O., Tokarevich N.K. Tick infection by pathogens of tick-borne borreliosis and Q fever in St. Petersburg. *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6 (3):118. (in Russian)
6. Zlobin V.I., Rudakov N.V., Malov I.V. Tick-transmitted diseases. [Kleshchevye transmissivnye infektsii]. Novosibirsk: Nauka; 2015. (in Russian)
7. Dayter A.B., Rybakova N.A., Tokarevich N.K. Epidemic projection of the intraocardial foci of Q fever. *Zhurnal mikrobiologiya*. 1988; 11: 51-6. (in Russian)
8. Shuchinova L.D., Bondarenko E.I. Cases of human exposure to Q-fever by vector-borne transmission. In: Proceedings of the XI Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation (April 1-3, 2019). Moscow; 2019: 234-5. (in Russian)
9. Malov V.A., Gorobchenko A.N., Gyulazyan N.M., Nemilostiva E.A., Kanshina N.N., Nekhaev S.G. et al. "Unclear fever": eighty years later. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2017; 22 (4): 200-7. (in Russian)
10. Malov V.A., Ponomarev S.V., Tarasevich I.V., Kubenskij E.N., Gorobchenko A.N., Pantyhina A.N. et al. Description of severe Q fever. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2015; 11: 84-91. (in Russian)
11. Guidelines 3.1.3012-12 Collection, accounting and preparation for laboratory research of blood-sucking arthropods in natural foci of dangerous infectious diseases: Methodological instructions. Moscow: Federal'ny tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2011. (in Russian)
12. Guidelines 3.1.1029-01 Catching, accounting and forecasting the number of small mammals and birds in natural foci of infections: Guidelines. Moscow: Federal'ny tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii; 2002. (in Russian)
13. Bondarenko E.I., Kravcov V.Y., Solov'yov A.I., Rakin A.I., Timofeev D.I., Shvalov A.N. et al. Molecular genetic study of Argas ticks *Ornithodoros papillipes* from the collection of Academician E.N. Pavlovsky. *Novosti «Vektor-Best»*. 2020; 1 (95): 7-15. (in Russian)
14. Krasikov A.P., Rudakov N.V. Rickettsioses, coxiellosis and anaplasmoses of humans and animals. [Rikketsiozy, koksiielloz i anaplazmozy cheloveka i zhivotnykh]. Omsk: Omskiy nauchnyi vestnik; 2013. (in Russian)