Изучение распространенности на юге Дальнего Востока возбудителей инфекций, передаваемых иксодовыми клещами

Г.Н. Леонова¹ (galinaleon41@gmail.com), Е.И. Бондаренко²,
А.А. Хворостянко¹, А.В. Курловская¹

¹ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова», г. Владивосток

²ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

Резюме

Впервые с помощью ПЦР в режиме реального времени в иксодовых клещах и в лейкоцитарной фракции крови лиц, обследованных после укуса клеща, было установлено существование ряда возбудителей «клещевых» инфекций (*B. burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*, вируса клещевого энцефалита (КЭ)) на двух очаговых территориях, прилежащих к г. Владивостоку. Зараженность *I. persulcatus* боррелиями – возбудителями ИКБ достигала 31% и впервые выявленными *B. miyamotoi*, анаплазмами, эрлихиями – 4%. Выявление РНК вируса КЭ в двух случаях за эпидсезон 2014 года указывает на низкий эпизоотологический потенциал природных очагов КЭ на юге Дальнего Востока.

Ключевые слова: природный очаг, возбудители клещевых инфекций, ПЦР

Study Distribute Pathogens of Tick-Borne Infections, Transmitted of Ticks in the South of the Far East

G.N. Leonova (galinaleon41@gmail.com), E.I. Bondarenko, A.A. Khvorostyanko,
A.V. Kurlovskaya

¹Federal State Budgetary Institution «Institute of Epidemiology and Microbiology», Vladivostok

²Joint Stock Company «Vector-Best», Novosibirsk

Abstract

The first time was identified by PCR in real time in *Ixodes* ticks and leukocyte blood fractions of persons tested after a tick bite, the existence of a number of pathogens of tick-borne infections (*B. burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*, tick-borne encephalitis virus) on two focal areas adjacent to Vladivostok. The infection of *I. persulcatus* *B. burgdorferi* s.l. reached 31%, and for the first time identified *B. miyamotoi*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* – 4%. Detection of RNA of TBE virus in 2 cases in epidemiological season in 2014, indicating a low potential epizootological natural focuses of TBE in the southern Far East.

Key words: natural focus, pathogens tick-borne infections, PCR

Введение

Открытие и изучение вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) на Дальнем Востоке явились решающим научным этапом в формулировании Е.Н. Павловским в 1939 году основных положений концепции природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней [11]. На протяжении 75-летнего периода происходило накопление новых научных данных о заболеваниях, связанных с природными очагами, на территории Российской Федерации (РФ), о влиянии антропогенной, то есть хозяйственной, деятельности человека на структуру, эпизоотическую и эпидемиологическую активность природных очагов и соответственно на заболеваемость населения разными природно-очаговыми инфекциями. К настоящему времени получены многочисленные доказательства того, что природные очаги могут представлять собой сочетание двух и более нозологических форм инфекций. В сочетанном природном очаге имеются условия для одновременной циркуляции возбудителей различных инфекционных болезней зачастую в одном переносчике, а также в одном млекопитающем, на что еще в да-

лекие 60-е годы XX века указывала П.А. Петрищева [12].

На юге Дальнего Востока чаще всего проводились исследования по изучению клещевого энцефалита (КЭ), хотя на территории Приморского края известна также циркуляция возбудителей клещевого риккетсиоза, передаваемого клещами *Dermacentor silvarum* и клещами рода *Haemaphysalis* (*H. concinna*, *H. japonica*) [17]. В последние десятилетия интерес к группе возбудителей риккетсиоза проявили ученые Омского НИИПИ под руководством Н.В. Рудакова, их исследования существенно изменили представление о распространении риккетсий в России. Авторами было установлено существование на Дальнем Востоке трех патогенных риккетсий клещевой пятнистой лихорадки (*R. sibirica* subsp. *sibirica*, *R. sibirica* subsp. *BJ-90*, *R. heilongjiangensis*), а также ряда риккетсий с неизвестной патогенностью [13, 14].

В последние два десятилетия исследователи уделяли внимание другой группе клещевых инфекций – иксодовым клещевым боррелиозам (ИКБ). Активная циркуляция возбудителей ИКБ была за-

регистрирована в РФ, и в частности на территории юга Дальнего Востока [8, 10].

Разработка современных молекулярно-генетических методов диагностики бактериальных и вирусных инфекций открыла большие перспективы в области изучения природно-очаговых болезней, а также в плане обнаружения в РФ новых, ранее неизвестных возбудителей клещевых инфекций [3 – 6].

Цель настоящего сообщения – получение новых данных на основе метода ПЦР в режиме реального времени о циркуляции известных (вируса клещевого энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов) и ранее неизвестных возбудителей (анаплазм, эрлихий, *B. miyamotoi*) на южной территории Дальнего Востока.

Материалы и методы

В работе проведен анализ материалов, поступивших в лабораторию с материковой территории, прилегающей к городу Владивостоку, и с острова Русский в весенне-летний (май–июнь) сезон 2014 года:

1. Иксодовые клещи, собранные с растительности на о. Русский, – 240 экз.
2. Присосавшиеся клещи, снятые с пациентов, – 69 экз.
3. Лейкоцитарная фракция крови лиц, пострадавших от укуса клещей, – 66 проб.

Клещей с растительности собирали на флаг, видовая принадлежность определялась согласно описанию [19]. Всего собрано и обследовано 240 экземпляров (*I. persulcatus* самок – 74 экз., самцов – 95 экз., *H. concinna* – 44 экз., *D. silvarum* – 20 экз., *I. pavlovsky* – 2 экз.).

Каждого клеща гомогенизировали с помощью прибора TissueLyser LT (Qiagen, Хильден, Германия). Выделение нуклеиновых кислот для ПЦР проводили из индивидуальных суспензий клещей, лейкоцитарной фракции крови с использованием набора реагентов РНК/ДНК «РИБО-преп» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва), а также с помощью набора «РеалБест экстракция 100» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) согласно инструкциям производителей.

Для осуществления ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) использовали амплификатор с флуоресцентной детекцией Rotor-Gene Q (Qiagen). Молекулярно-диагностические исследования проводились с помощью наборов реагентов серии «МультиПрайм» для амплификации фрагмента кДНК *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris-FL* (ЦНИИ эпидемиологии, Москва), а также наборов реагентов для выявления ДНК *B. miyamotoi* («РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*», ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Вычисление ошибки процентного отношения производили по формуле:

$$m_p = \sqrt{\frac{p \times (100-p)}{n}}$$

где:

m_p – средняя ошибка процентного отношения,

p – относительная величина в процентах,

n – общее число наблюдений.

Результаты и обсуждение

Сборы клещей на о. Русский проводили на четырех маршрутах, где обитают разные виды иксодовых клещей: *I. persulcatus*, *I. pavlovsky*, *H. concinna* и *D. silvarum*. Доминирующим видом (72%) на всей изучаемой территории был клещ *I. persulcatus*, который, как известно, имеет основное эколого-эпидемиологическое значение в сохранении и трансмиссивной передаче возбудителей многих природно-очаговых инфекций. Индивидуальное исследование клещей показано в таблице 1.

Обращает на себя внимание высокий процент выявляемости ДНК возбудителей ИКБ у клещей *I. persulcatus* (самки – 33,8%, самцы – 29,5%). Общий показатель зараженности возбудителями ИКБ клещей *I. persulcatus* составил 31%, а всех иксодовых клещей, собранных на о. Русский, – 23,3%. Реже в клещах, собранных с растительности, выявляли ДНК *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris-FL*. В то же время, нами не зарегистрировано ни одного случая выявления РНК вируса КЭ у этих клещей.

Для получения данных о степени вероятности инфицирования людей возбудителями природно-очаговых болезней, выявленными в иксодовых клещах, которые были собраны с растительности, нами были проведены дополнительные исследования клещей, снятых с пациентов, пострадавших на южной лесопокрываемой материковой территории Владивостока и на о. Русский. В случаях потери удаленного клеща исследовалась лейкоцитарная фракция крови укушенного. Из таблицы 2 видно, что на материковой территории у клещей, снятых с людей, чаще выявлялись боррелии, вызывающие ИКБ (34,8%). Средний показатель детекции ДНК боррелий, относящихся к группе *B. burgdorferi* s.l., в клещах, собранных на рассматриваемых территориях, составил 26,1%, на втором месте – выявление ДНК *B. miyamotoi* (11,6%). Кроме того, в клещах зарегистрированы единичные случаи детекции ДНК анаплазм и эрлихий. РНК вируса КЭ была обнаружена только в одном случае из клеща *I. persulcatus*, присосавшегося к пациенту на о. Русский.

При исследовании образцов лейкоцитарной фракции крови пациентов, пострадавших от укуса клещей, получена иная картина: на 2 – 3-й день после присасывания клеща ни в одном случае не зафиксирована зараженность людей возбудителями ИКБ и ГАЧ (табл. 3). Нуклеиновые кислоты вируса КЭ и возбудителей МЭЧ выявлены в единичных случаях (в пригороде Владивостока), а ДНК *B. miyamotoi* – в трех случаях.

Характерны также показатели Ct РНК/ДНК, которые выше всего были для возбудителей ИКБ

Таблица 1.

Частота обнаружения в ПЦР-РВ нуклеиновых кислот возбудителей «клещевых» инфекций у иксодовых клещей, собранных с растительности на о. Русский

Вид клеща	N	Вирус КЭ		<i>B. burgdorferi</i> s.l.	<i>A. phagocytophilum</i>			<i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris-FL</i>		<i>B. miyamotoi</i>	
		%	Ct		Ct	%	Ct	%	Ct	%	Ct
<i>I. persulcatus</i> (самка)	74	0	0	33,8 ± 5,5	20,5	6,7 ± 2,9	23,5	4,0 ± 2,2	20,8	8,1 ± 3,1	27,8
<i>I. persulcatus</i> (самец)	95	0	0	29,5 ± 4,6	20,3	1,0	33,0	4,2 ± 1,3	21,2	1,0	24,5
<i>I. persulcatus</i> (нимфа)	5	0	0	20	24,5	0	0	0	0	0	0
Всего	174	0	0	31 ± 3,5	20,4	3,4 ± 1,3	25,4	4,0 ± 1,5	20	4,0 ± 1,5	27,3
<i>H. concinna</i>	44	0	0	0	0	0	0	4,5 ± 3,1	34,0	2,2	0
<i>D. silvarum</i>	20	0	0	5,0 ± 4,8	31,0	0	0	5,0 ± 4,8	25,7	0	0
<i>I. pavlovsky</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Всего	240	0	0	23,3 ± 2,7	–	2,5 ± 1,0	–	4,1 ± 1,2	–	3,3 ± 1,1	–

Примечание: Ct – пороговое значение, средний показатель.

Таблица 2.

Обнаружение в ПЦР-РВ нуклеиновых кислот возбудителей «клещевых» инфекций у клещей, снятых с людей в природных очагах юга Дальнего Востока

Районы	N	Вирус КЭ		<i>B. burgdorferi</i> s.l.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris-FL</i>		<i>B. miyamotoi</i>	
		%	Ct	%	Ct	%	Ct	%	Ct	%	Ct
О. Русский	46	2,2	19,3	21,7 ± 6,0	20,7	0	0	4,1	39,3	15,2 ± 5,2	32,6
Пригород г. Владивостока	23	0	0	34,8 ± 9,0	20,7	4,3	24,2	4,3	14,4	5	36,2
Всего	69	1,5	19,3	26,1 ± 5,2	20,7	1,4	24,2	4,3	–	11,6 ± 3,8	–

Примечание: Ct – пороговое значение, средний показатель.

Таблица 3.

Обнаружение ДНК/РНК возбудителей «клещевых» инфекций у людей (в лейкоцитарной фракции крови) на 2 – 3-й день после присасывания иксодовых клещей

Районы	N	Вирус КЭ		<i>B. burgdorferi</i> s.l.		<i>A. phagocytophilum</i>		<i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris-FL</i>		<i>B. miyamotoi</i>	
		%	Ct	%	Ct	%	Ct	%	Ct	%	Ct
О. Русский	24	0	0	0	0	0	0	0	0	8,3 ± 5,6	36,5
Пригород Владивостока	42	2,4	28,2	0	0	0	0	2,4	34,9	3,1 ± 2,6	38,1
Всего	66	1,5	28,2	0	0	0	0	1,5	34,9	4,6 ± 2,5	–

Примечание: Ct – пороговое значение, средний показатель.

(средний показатель для клещей, собранных с растительности, а также снятых с людей, – 20). Это указывало на высокое содержание возбудителя в клещах, а также на большую вероятность для людей быть инфицированными. Средний показатель значений Ct для ДНК *B. miyamotoi* у клещей *I. persulcatus*, собранных с растительности, был ра-

вен 34, у клещей, снятых с людей на о. Русский и материковой территории, – 33 и 36, а средний показатель лейкоцитарной фракции крови людей, заразившихся на этих территориях, – 37 и 38 соответственно.

Сочетанное инфицирование клещей, собранных с растительности, наблюдали в 11 случаях. Это

были самки *I. persulcatus*, в которых были выявлены боррелии группы *B. burgdorferi s.l.*, анаплазмы, эрлихии и *B. miyamotoi*. В одном присосавшемся клеще *I. persulcatus* на о. Русский одновременно выявляли эрлихии и *B. miyamotoi*, а на материковой территории – эрлихии и *B. burgdorferi s.l.*

Таким образом, с помощью ПЦР-РВ впервые было показано существование на юге Дальнего Востока и на о. Русский пяти возбудителей «клещевых» инфекций (ИКБ, КЭ, ГАЧ, МЭЧ и клещевой возвратной лихорадки, вызванной *B. miyamotoi*). Чаще всего встречалась зараженность клещей боррелиями (возбудителями ИКБ и *B. miyamotoi*). Единичными были находки нуклеиновых кислот вируса КЭ, анаплазм и эрлихий. При показателях активной циркуляции возбудителей ИКБ в присосавшихся клещах (26,1%) и в клещах, собранных с растительности (20,8%), в крови пациентов на начальной стадии инфекционного процесса (на 2 – 3-й день после укуса клеща) ни в одном случае не удалось выявить ДНК возбудителей ИКБ. Это связано с тем, что в начальный период инфицирования возбудители ИКБ локализуются в кожных покровах места укуса клеща [15]. В то же время, другая спирохета *B. miyamotoi*, которая предположительно не формирует депо возбудителя в кожных покровах и вследствие чего не образует патогномичного признака для ИКБ – мигрирующей эритемы, сразу после укуса клеща проникает в кровь пациента и вызывает генерализованную форму инфекции [16]. Об этом свидетельствует факт выявления ДНК *B. miyamotoi* в крови людей на 2 – 3-й день после укуса клеща в 4,6% случаев. В работах других авторов при исследовании крови лихорадочных больных обнаруживали *B. miyamotoi* в 13 – 15% случаев [4, 5].

Необходимо отметить, что благодаря использованию нового разработанного ПЦР-теста «Реал-Бест ДНК *Borrelia miyamotoi*» нами впервые удалось выявить на территории Приморского края циркуляцию неизвестного в этом регионе возбудителя *B. miyamotoi*, вызывающего у людей клещевые возвратные лихорадки. Процент зараженности клещей *I. persulcatus*, собранных с растительности, составил 4%, что соотносится с зараженностью этим возбудителем клещей, обследованных в европейской части России, Западной Сибири и на Дальнем Востоке [4 – 6, 18, 20]. С эпидемиологической точки зрения также представляет интерес впервые установленный нами факт инфицирования возбудителем *B. miyamotoi* клещей *H. concinna*. Кроме того, одновременное выявление разных возбудителей в клещах-переносчиках рода *Ixodes*, как считает А.Н. Алексеев [1], – это правило, а не исключение. В наших исследованиях, как и в других работах [7, 10], данный постулат получил подтверждение, нами также были обнаружены сочетания возбудителей разных клещевых инфекций.

Наше внимание было обращено на низкие показатели зараженности вирусом КЭ клещей

и людей на юге Дальнего Востока, в том числе и на о. Русский, который является самостоятельным типичным природным очагом, в миниатюре повторяющим характерные закономерности, ранее описанные для природных очагов Приморского края. Многие десятилетия о. Русский был территорией, закрытой для посещения гражданским населением. В последнее пятилетие в связи с освоением и грандиозным строительством произошли значительные изменения ландшафтной структуры территории острова, что могло отразиться на активности природных очагов известных и неизвестных здесь инфекций.

Ранее, в 2011 году, по программе подготовки к саммиту АТЭС иксодовые клещи, собранные с растительности на о. Русский, были обследованы сотрудниками Иркутского противочумного института. Из опубликованных данных [2] следовало, что о. Русский является активно действующим очагом вируса КЭ. Причем положительные в ПЦР результаты выявления РНК ВКЭ у разных видов клещей колебались от 2,8% у *H. concinna* до 21,2% у *I. persulcatus*. В то же время, при изоляции штаммов ВКЭ была получена противоположная картина: один штамм ВКЭ (1,4%) был выделен из основного классического хозяина и переносчика вируса *I. persulcatus* и девять штаммов ВКЭ (7,6%) – из дополнительного резервуара вируса *H. concinna*, имеющего в природных очагах Приморского края низкий эпидемиологический и эпизоотологический потенциал [9]. Причем все изоляты оказались штаммами, подобными иркутскому штамму Айна сибирского субтипа, и на филогенетическом древе расположились на ветви кластера Айна, обладая высоким, до 100%, уровнем гомологии [2].

В сравнении с этими данными мы показали, что исследование в ПЦР-РВ 240 экземпляров иксодовых клещей, собранных с растительности на тех же маршрутах о. Русский, которые были описаны Е.И. Андаевым с соавторами [2], не выявило РНК ВКЭ ни в одном случае. Такие данные говорят об отсутствии или крайне низкой активности природных очагов КЭ в настоящее время. Несмотря на это, можно допустить возникновение редких спорадических случаев заболевания КЭ, о чем свидетельствует один случай детекции РНК ВКЭ из снятых клещей у лиц, обратившихся в лабораторию по поводу укусов клещей на островной территории Владивостока.

Выводы

1. Впервые на основании изучения иксодовых клещей, собранных с растительности и снятых с пациентов, а также лейкоцитарной фракции крови пациентов в первые дни после присасывания клещей получены данные о циркуляции на юге Дальнего Востока ранее неизвестной здесь *B. miyamotoi*.
2. Полученные результаты указывают на разную степень выявляемости ДНК/РНК возбудите-

лей пяти клещевых инфекций (*B. burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*, вируса клещевого энцефалита) на юге Дальнего Востока.

3. Показана высокая степень активности возбудителей клещевых боррелиозов (*B. burgdorferi* s.l. и *B. miyamotoi*) и низкая – возбудителей ГАЧ, МЭЧ и клещевого энцефалита.

Литература

1. Алексеев А.Н., Дубинина А.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы в условиях усиливающегося антропогенного пресса. Санкт-Петербург: ЗАО «Инсанта»; 2008: 146.
2. Андаев Е.И., Борисова Т.И., Сидорова Е.А. Адельшин Р.В., Никитин А.Я., Балахонov С.В. и др. Изоляция и молекулярно-генетическая характеристика вируса клещевого энцефалита от иксодовых клещей с острова Русский (Приморский край). Сиб. мед. журн. 2012; 4: 93 – 96.
3. Бондаренко Е.И., Тимофеев Д.И., Иванов М.К. Использование REAL-TIME PCR для оценки инфицированности клещей бактериями-возбудителями заболеваний человека. Молекулярная диагностика. 2010; 2: 216 – 219.
4. Бондаренко Е.И., Сибирцева Г.С., Ткачев В.К., Вяткина Т.Г., Баранова С.Г., Тимофеев Д.И., Иванов М.К. Дифференциальный подход к выявлению боррелий в клещах и клинических образцах с помощью ПЦР-анализа в режиме реального времени с использованием набора серии «Реал-Бест». Молекулярная диагностика. 2014; 1: 503, 504.
5. Бондаренко Е.И., Позднякова Л.Л., Сибирцева Г.С., Тимофеев Д.И., Фоменко Н.В., Иванов М.К. Набор реагентов для выявления *Borrelia miyamotoi* – возбудителя клещевой возвратной лихорадки методом ПЦР в режиме реального времени. Новости «Вектор-Бест». 2013; 1 (67), 2 – 9.
6. Карань Л.С., Колясникова Н.М., Сарксян Д.С., Гриднева К.А., Федорова М.В., Есаулкова А.Ю., Романенко В.В. Инфицированность иксодовых клещей и мелких млекопитающих боррелиями различных таксономических групп. Молекулярная диагностика. 2014; 1: 493, 494.
7. Коренберг Э.И. Изучение и профилактика микст-инфекций, передающихся клещами. Вестник РАМН. 2001; 11: 41 – 45.
8. Коренберг Э.И. Иксодовые клещевые боррелиозы: основные итоги изучения и профилактики в России: Материалы научно-практической конференции «Клещевые боррелиозы». Ижевск; 2002: 165 – 172.
9. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае. Владивосток: Дальнаука; 1997: 187.
10. Леонова Г.Н., Якушева С.С., Иванис В.А. Дадалова О.Б., Мыльцина И.Н., Липовская О.И. и др. Эпидемиология и клиника клещевого риккетсиоза Северной Азии на юге Приморья. Эпидемиол. инфек. болезни. 2002; 1: 49 – 53.
11. Павловский Е.Н. Природная очаговость и ландшафтная эпидемиология трансмиссивных болезней. Медицинская паразитология. Паразитарные болезни. 1944; 6: 29 – 38.
12. Петрищева П.А. О проблеме смешанных инфекций: Материалы юбил. конф., посвящ. 25-летию Владивостокского НИИЭМ. Владивосток; 1966: 4, 5.
13. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Оберт А.С. Клещевой риккетсиоз и риккетсии группы клещевой пятнистой лихорадки в России. Омск: Издательский центр «Омский научный вестник»; 2011: 231.
14. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Ястребов В.К., Оберт А.С., Курепина Н.Ю. и др. Риккетсии и риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Сибири. Омск: Издательский центр «Омский научный вестник»; 2012: 285.
15. Рудакова С.А. Современные методы молекулярной диагностики в изучении сочетанных природных очагов инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Молекулярная диагностика. 2010; 2: 267 – 270.
16. Сарксян Д.С., Платонов А.Е., Карань Л.С., Малинин И.Е., Халитова Л.И., Шахов В.И. и др. Клинические особенности «нового» клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi*. Тер. арх. 2012; 11: 34 – 41.
17. Сомов Г.П. Клещевой риккетсиоз Северной Азии. Природно-очаговые болезни в Приморском крае. Владивосток; ДВНЦ АН СССР. 1975: 83 – 101.
18. Фоменко Н.В., Ливанова Н.Н., Боргояков В.Ю. Выявление *Borrelia miyamotoi* в клещах *Ixodes persulcatus* на территории России. Паразитология. 2011; 44 (3): 201 – 211.
19. Якименко В.В., Малькова М.Г., Шпынов С.Н. Иксодовые клещи Западной Сибири (фауна, экология, основные методы исследования). Омск: Издательский центр «Омский научный вестник»; 2013: 239.
20. Platonov A.E., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A., Toporkova M.G., Maleev V.V. et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 1816 – 1823.

References

1. Alekseev A.N., Dubinina A.V., Jushkova O.V. Functioning of the «Tick-pathogens» parasitic system under the influence of increasing anthropogenic pressing. Saint-Peterburg: ZAO «Isanta»; 2008: 146 (in Russian).
2. Andaev E.I., Borisova T.I., Sidorova E.A. Adelshin R.V., Nikitin A.Ya., Balakhonov S.V. et al. Isolation and molecular-genetic characterization of tick-borne encephalitis virus from ixodes ticks at Russian island (Primorye territory). Sib. med. J. 2012; 4: 93 – 96 (in Russian).
3. Bondarenko E.I. Timofeev D.I., Ivanov M.K. Using REAL-TIME PCR to assess the infection of ticks bacterium of human diseases. Molecular Diagnostics. 2010; 2: 216 – 219 (in Russian).
4. Bondarenko E.I. Sibirtseva G.S., Tkachev V.K., Vyatkina T.G., Baranova S.G., Timofeev D.I., Ivanov M.K. Differential approach to the identification of *Borrelia* in ticks and clinical samples by PCR analysis in real-time using a set of the series «Real-Best». Molecular Diagnostics. 2014; 1: 503, 504 (in Russian).
5. Bondarenko E.I., Pozdnjakova L.L., Sibirtseva S.G., Timofeev D.I., Fomenko N.V., Ivanov M.K. Reagent kit for detecting *Borrelia miyamotoi* tick-borne relapsing fever pathogen by PCR in real time. News «Vector-Best». 2013; 1 (67): 2 – 9 (in Russian).
6. Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Sarksyen D.S., Gridneva K.A., Fedorova M.V., Esaulkova A.Yu., Romanenko V.V. Infection of ticks and small mammals *Borrelia* different taxonomic groups. Molecular Diagnostics. 2014; 1: 493 – 494 (in Russian).
7. Korenberg E.I. The study and prevention of mixed infections transmitted by ticks. Vestnik. RAMS. 2001; 11: 41 – 45 (in Russian).
8. Korenberg E.I. Ixodes tick borreliosis: main results of the study and prevention in Russia. Proceedings of the scientific-practical conference «Lyme borreliosis». Izhevsk; 2002: 165 – 172 (in Russian).
9. Leonova G.N. Tick-borne encephalitis in the Primorsky Krai. Publishing house Vladivostok: Dal'nauka; 1997: 187 (in Russian).
10. Leonova G.N., Jakusheva S.S., Ivanis V.A., Dadalova O.B., Myltsina I.N., Lipovskaya O.I. et al. Epidemiology and hospital borne rickettsiosis North Asia in southern Primorye. Epidemiology infections diseases. 2002; 1: 49 – 53 (in Russian).
11. Pavlovsky E.N. Natural foci and landform epidemiology of vector-borne diseases. Med. parazitol. Parasitic diseases. 1944; 6: 29 – 38 (in Russian).
12. Petrisheva P.A. On the problem of mixed infections. Materials anniversaries. conf. dedicated. 25-Anniversary of Vladivostok. IEM; 1966: 4, 5 (in Russian).
13. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Samojlenko I.E., Obert A.S. Tick-borne typhus group rickettsiae and tick-borne spotted fever in Russia. The Publishing Center Omsk: «The Omsk Scientific Bulletin»; 2011: 231 (in Russian).
14. Rudakov N.V., Shpynev S.N., Samojlenko I.E., Yastrebov V.K., Obert A.S., Kurepina N.Y. et al. Rickettsiae and rickettsial diseases of spotted fever group in Siberia. Omsk: The Publishing Center «The Omsk Scientific Bulletin»; 2012: 285 (in Russian).
15. Rudakova S.A. Modern methods of molecular diagnostics in the study of combined natural foci of infections transmitted by Ixodes ticks. Molecular Diagnostics. 2010; 2: 267 – 270 (in Russian).
16. Sarksyen D.S., Platonov A.E., Karan' L.S., Malinin I.E., Khalitova L.I., Shakhov V.I. et al. Clinical presentation and of «new» borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*. Ther. arch. 2012; 11: 34 – 41 (in Russian).
17. Somov G.P. Tick-borne typhus Rickettsiae in North Asia. Natural focal disease in the Primorye Territory. Vladivostok; DVNC AN SSSR 1975: 83 – 101 (in Russian).
18. Fomenko N.V., Livanova N.N., Borgoyakov V.Y. Detection of *Borrelia miyamotoi* in ticks *Ixodes persulcatus* in Russia. Parasitology. 2011; 44 (3): 201 – 211.
19. Yakymenko V.V., Malkova M.G., Shpynov S.N. Ticks in Western Siberia (fauna, ecology, basic research methods) Omsk: The Publishing Center «The Omsk Scientific Bulletin»; 2013: 239 (in Russian).
20. Platonov A.E., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A., Toporkova M.G., Maleev V.V. et al. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. Emerg. Infect. Dis. 2011; 17: 1816 – 1823.