

IXODES RICINUS LARVA, THEIR MORPHO-PHYSIOLOGICAL FEATURES, SEASONAL ACTIVITY AND EPIDEMIOLOGY IN THE CONDITIONS OF TERNOPIL REGIONE**S. Podobivskiy, L. Fedoniuk***e-mail: podobivskiy@tdmu.edu.ua; fedonyuklj@tdmu.edu.ua*I. Horbachevsky Ternopil State Medical University
1, Freedom Square, Ternopil, 46001, Ukraine

Ixodes mites are active reservoirs and carriers of many infective diseases of animals and humans. Among them, the dog tick (Ixodes ricinus) is one of the most active mites, which at all stages of their life is able to convey man to borreliosis, anaplasmosis, babesiosis, and ehrlichiosis.

During 2018, 619 ticks were sent for the study to the Horbachevsky Ternopil State Medical University laboratory. Ticks included 19 larvae (3,06 %), taken from the body of people at the traumatological state of the Ternopil city emergency hospital.

When comparing changes of morphological parameters of the body with degrees of larval saturation by the host's blood, it is noted that changes in body length and changes in the width of the abdomen occur almost in proportion. So, when the length of the body increases in 2,5, the width of the abdomen increases to 2,1.

The analysis of the frequency of larval attacks on humans during 2017-2018 has shown that the peak of their development and attacks on people is manifested in May-June and in August-September. The highest parameter is in August (39,1%). Changes of the larvae' activity are evidently due to the temperature, that has been observed in recent years in Ukraine. In particular, at the end of June - in the middle of July there was a temperature maximum - more than 27-30°C and a decrease in humidity to less than 70 %. During this period, virtually all stages of mites fell into the state of diapause. Arthropods attacked their victims mainly in the parks and squares of the city of Ternopil.

There were cases of mites attacks on children directly in the adjoining to the houses green regions and at playgrounds. Obviously, the presence of mites in such areas within the city is supported by a number of mammals, including mammals, birds, and pets.

The analysis of the epidemiological state of the larvae of the Ixodes ricinus species was carried out using the PCR on the Rotor-Gene - 6000 analyzers in real time. Of the 23 larvae, carriers of infections were only three. Each of them had two pathogens. Two of them had pathogens Borrelia burgdorferi s.l. and Anaplasma phagocytophilum and one - Borrelia miyamotoi and Anaplasma phagocytophilum. Thus, the percentage of infected larvae from their total was 13%.

Key words: *ixodes mites, larvae, morpho-physiological characteristics, Borrelia burgdorferi sl., Anaplasma phagocytophilum*

ЛИЧИНКИ IXODES RICINUS, ЇХ МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ, СЕЗОННА АКТИВНІСТЬ ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ В УМОВАХ ТЕРНОПІЛЛЯ**С. С. Подобівський, Л. Я. Федонюк***e-mail: podobivskiy@tdmu.edu.ua; fedonyuklj@tdmu.edu.ua*ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”

майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна

Іксодові кліщі є активними резервуарами та переносниками багатьох інфекційних захворювань тварин і людини. Серед них собачий кліщ (Ixodes ricinus) є одним із найактивніших кліщів, який у всіх життєвих стадіях здатний передавати людині збудників бореліозу, анаплазмозу, бабезіозу та ерліхіозу.

Протягом 2018 року у лабораторію з дослідження кліщів ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України” на дослідження було направлено 619 кліщів, із них – 19 личинок (3,06 %), знятих із тіла людей у травматологічному пункті Тернопільської

обласної дитячої лікарні та з Тернопільської міської лікарні швидкої допомоги.

При порівнянні змін морфологічних показників тіла зі ступенями насичення личинок кров'ю хазяїна відзначається, що зміни довжини тіла та зміни ширини черевця відбуваються майже пропорційно. Так, при зростанні довжини тіла у 2,5 рази, ширина черевця зростає у 2,1 рази.

Аналіз частоти нападів личинок на людей протягом 2017–2018 років показав, що пік їх розвитку та нападів на людей проявляється у травні-червні та у серпні-вересні. Найвищий показник припадає на серпень (39,1%). Зміни активності личинок, очевидно, зумовлені температурним режимом, який спостерігається останнім часом в Україні. Зокрема, наприкінці червня – в середині липня спостерігався температурний максимум – понад 27–30°C і зниження вологості до менше ніж 70%. У цей період практично всі стадії кліщів впадали в стан діпаузи. Членистоногі нападали на своїх жертв переважно в парках і скверах м. Тернопіль. Відзначалися випадки нападів кліщів на дітей безпосередньо в прибудинкових зелених насадженнях і на дитячих майданчиках. Очевидно, наявність кліщів в таких зонах у межах міста підтримується низкою ссавців, зокрема гризунами, птахами та домашніми тваринами.

Аналіз епідеміологічного стану личинок виду *Ixodes ricinus* здійснювався за допомогою ПЛР на аналізаторі Rotor Gene – 6000 в реальному часі. З 23 личинок носіями інфекцій були лише три. Кожна з них мала по два збудники. Дві з них мали збудників *Borrelia burgdorferi* s.l. і *Anaplasma phagocytophilum* і одна – *Borrelia miyamotoi* і *Anaplasma phagocytophilum*. Таким чином, відсоток заражених личинок від їх загального числа становив 13%.

Ключові слова: іксодові кліщі, личинки, морфо-фізіологічна характеристика, *Borrelia burgdorferi* sl., *Anaplasma phagocytophilum*.

Постановка проблеми

Іксодові кліщі за останні десятиліття стали одним із важливих факторів, що сприяють перенесенню ними збудників багатьох інфекційних захворювань тварин і людини. Кліщі мають унікальну здатність бути резервуаром цих збудників і дуже часто передають їх оваріально від однієї життєвої стадії до іншої. Поширення кліщів не обмежується природними біоценозами, але характеризується активним захопленням урбанізованих екосистем: парків, скверів, садів, прибудинкових зелених насаджень тощо. Наявність в цих біогеоценозах різноманітних диких і домашніх тварин дозволяє кліщам знаходити свого хазяїна як на стадії личинки, так і на стадії німфи та імаго. Серед кліщів урбанізованих популяцій спостерігається високий відсоток особин, заражених *Borrelia burgdorferi* sl., бактеріями ряду *Rickettsiales* (*Anaplasma phagocytophilum*, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Rickettsia helvetica* і *R. monacensis*), *Borrelia miyamotoi* і найпростіші (*Babesia divergens*, *B. venatorum* і *B. Microti*).

У вітчизняній і зарубіжній літературі недостатньо уваги приділяється питанням ролі преімагінальних стадій іксодових кліщів у перенесенні збудників інфекційних захворювань до людини. Особливо це стосується личинок. Є дані про те, що личинки переважно паразитують на дрібних ссавцях і птахам, сприяючи поширенню інфекційних збудників між ними.

Аналізуючи результати досліджень щодо нападів різних життєвих стадій собачого кліща на людей у м. Тернопіль і Тернопільській області, помітно, що, окрім дорослих форм, на людей нападають також німфи та личинки, серед яких була значна кількість носіїв збудників бореліозів і анаплазмозу.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Ixodes ricinus відноситься до групи трьох-хазяїнових кліщів. Тобто кожна його стадія розвивається на іншому хазяїні [5]. В цілому собачий кліщ, перебуваючи на різних стадіях розвитку, для свого живлення може використовувати близько 300 видів наземних хребетних тварин [9]. Личинки кліща *Ixodes ricinus* найчастіше паразитують на мишоподібних гризунах, як наприклад на миші лісовій (*Apodemus sylvaticus*), миші польовій (*A. agrarius*), миші жовтогорлій (*A. flavicollis*), миші хатній (*Mus musculus*), миші-малятко (*Micromys minutus*), миші звичайній (*Microtus arvalis*), миші європейській рудій (*Clethrionomys glareolus*), а також на полівках. Крім мишоподібних гризунів господарями личинок цього кліща часто є комахоїдні тварини: їжак європейський (*Erinaceus europaeus*), бурозубка звичайна (*S. araneus*), бурозубка мала (*Sorex minutus*), соня лісова (*Dryomys nitedula*), соня садова (*Myoxus glis*), кріт (*Talpa europaeus*), кутора мала (*Neomys anomalus*). Зустрічаються личинки також і на білці звичайній (*Sciurus vulgaris*) та на зайці-русакові (*Lepus europaeus*). Важливе значення

для живлення, а особливо для поширення по ареалах для личинок кліща собачого мають птахи. Їх найчастіше знаходять на тілі шеврика лісового (*Anthus trivialis*), зяблика (*Fringilla coelebs*), малинівці (*Erithacus rubecula*), синиці чубатій (*Parus cristatus*), рябчику (*Bonasa bonasia*) [1, 3, 6, 8].

Існує чітка градація: личинки можуть зустрічатися на тваринах різних за розмірами, від мишоподібних гризунів до великих тварин і людини. Німфи зустрічаються на тваринах середніх розмірів і людях, а імаго – на великих тваринах і людях. Це пояснюється висотою рослин, на яких личинки, німфи та імаго очікують на своїх жертв [14]. У личинок ця висота є найменшою (близько 10 см), у німф трохи більша (30–40 см) в імаго (понад 50 см).

Лабораторні дослідження показали, що личинки можуть житися на хазяїні від 2 до 5 днів [2].

Личинки *I. ricinus* з'являються наприкінці квітня. Найбільше їх можна спостерігати в третій декаді червня, наприкінці липня і на початку серпня [4]. За даними Ємчук Є. М. [5] личинки в умовах України з'являються в кінці червня – на початку липня. Розвиток личинок відбувається через 15–20 діб. Їх перетворення на німфи може тривати 35–40 діб [3, 7].

Нідерландські вчені провели дослідження, у результаті яких виявляли природну зараженість личинок кліща *Ixodes ricinus* бореліями та їх здатність заражати хребетних тварин. Аналіз личинок щодо їх зараження бореліями показав, що безпосередньо у природі відсоток їх носійства *Borrelia burgdorferi sensu lato* становив всього лише 0,62 %, а *Borrelia Miyamotoi* – 2 % [11]. Встановлено також, що в природі зараженість личинок від самок через яйця спірохетою *Borrelia Miyamotoi* є цілком доведеним фактом, в той же час, зараженість *Borrelia burgdorferi* можлива лише від попереднього господаря при перерваному акті живлення [12].

Мета, завдання та методика досліджень

Метою досліджень було дослідити зміни морфологічних показників личинок внаслідок насичення кров'ю господаря, встановити сезонні закономірності нападів личинок собачого кліща на людей та їх здатності переносити збудників інфекційних захворювань до людини.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Встановити закономірності у змінах

показників деяких морфологічних ознак личинок *Ixodes ricinus* залежно від їх ступеня насиченості кров'ю господаря.

2. Виявити закономірності щодо інтенсивності нападів личинок собачого кліща на людей залежно від сезонних змін та їх біологічних особливостей.

3. Дослідити епідеміологічний стан личинок та їх здатність переносити збудників інфекцій і заражати ними людей.

Личинок із тіла людей знімали в травматологічному пункті лікарні швидкої допомоги м. Тернопіль за допомогою пінцета. Знятих личинок поміщали у відповідні резервуари та передавали в лабораторію з дослідження кліщів ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України” для їх ідентифікації.

Основні виміри личинок здійснювали за допомогою оптико-електронної системи SEO – IMAGLAB.

Визначення збудників, яких переносили добути кліщі, проводилось за допомогою методу полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу шляхом приготування суспензії кліщів, виділення самої ДНК та проведення подальшої ампліфікації з використанням ампліфікатора «ROTORGene -6000» в «реальному часі».

Результати досліджень

Протягом 2018 року у лабораторію з дослідження кліщів ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України” було направлено на дослідження 619 кліщів, з них 19 личинок (3,06 %), знятих з тіла людей у травматологічному пункті Тернопільської міської лікарні швидкої допомоги. Кліщі нападали на своїх жертв переважно в парках і скверах м. Тернопіль. Відзначалися випадки нападів цих членистоногих на дітей безпосередньо у прибудинкових зелених насадженнях і на дитячих майданчиках. Очевидно, наявність кліщів у таких зонах в межах міста підтримується низкою ссавців, зокрема гризунами, птахами і домашніми тваринами. Це підтверджується також і окремими вітчизняними і зарубіжними вченими, як наприклад І. А. Акімов, І. В. Небогаткін [1], Apparaola Rizzoli [13] та інші.

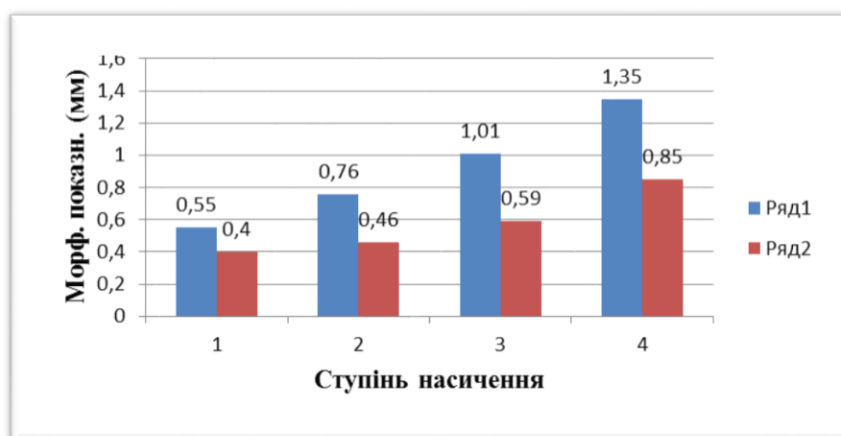
В лабораторії було обстежено 23 личинки кліщів цього виду, що становило близько 4% від

всієї кількості добутих кліщів.

Згідно з даними Ємчук Є. М. (1960) тіло голодних личинок майже кругле, довжиною 0,56 мм і шириною 0,046 мм. Хоботок довгий і тонкий завдовжки 0,2 – 0,3 мм. Тіло напівпрозоре, з видимим розгалуженим кишківником. При насиченні кров'ю тіло темніє і стає темно-бурим.

Нами було зроблено серію вимірів їх основних морфологічних показників: довжини

тіла та ширини черевця. Залежно від тривалості знаходження личинки на тілі господаря кількість висмоктоної крові зростає і відповідно лінійні розміри тіла кліща також зростають. Нами умовно прийнята градація ступеня насиченості кліщів кров'ю господаря, яка, відповідно, відображена певними морфологічними показниками (рис. 1).



Примітка: 1 ряд – середня довжина тіла; 2 ряд – середня ширина черевця.

Ступені насичення: 1 – ненасичена; 2 – частково насичена; 3 – ненасичена; 4 – дуже насичена

Рис. 1. Зміни довжини тіла та ширини черевця личинок *Ixodes Ricinus* за різних стадій насичення.

Порівнюючи зміни морфологічних показників тіла зі ступенями насичення личинок кров'ю господаря, видно, що зміни довжини тіла і зміни ширини черевця відбуваються майже пропорційно. Так, при зростанні довжини тіла у 2,5 раза, ширина черевця зростає у 2,1 раза.

Нами також проаналізовано періодичність, з якою личинки собачого кліща нападали на людей у досліджуваній період (рис. 2).



Рис. 2. Частота нападів личинок на людину у 2018 році

Аналіз частоти нападів личинок на людей протягом 2017–2018 років показав, що пік їх розвитку і нападів на людей проявляється у

травні-червні та у серпні-вересні. Найвищий показник припадає на серпень, що складає 39% від загальної кількості нападів. Зміни активності

личинки, очевидно, зумовлені температурним режимом, який спостерігається останнім часом в Україні. Зокрема, наприкінці червня – всередині липня спостерігався температурний максимум – понад 27–30°C і зниження вологості до менше ніж 70%. У цей період практично всі стадії кліщів впадали в стан діпаузи. Це підтверджується науковими дослідженнями інших вчених [9]. Наприкінці серпня – у вересні температура знижується до 23–25°C, а вологість зростає. Збільшується кількість опадів.

Нами проаналізовано епідеміологічний стан личинок виду *Ixodes ricinus*, знятих з людей в м. Тернопіль протягом 2017–2018 років. Всього було досліджено 23 личинки. Збудників виявляли з допомогою ПЛР на аналізаторі Rotor Gene – 6000 в реальному часі. З усіх личинок носіями інфекцій були лише три. Кожна з них мала по два збудники. Дві з них мали збудників *Borrelia burgdorferi s.l.* і *Anaplasma phagocytophilum* і одна – *Borrelia miyamotoi* і *Anaplasma phagocytophilum*. Таким чином, відсоток заражених личинок від їх загального числа становив 13 %.

Виходячи з літературних даних про вертикальне оваріальне зараження личинок і враховуючи, що заражені личинки були ненасиченими або частково насиченими, можна зробити висновок, що збудників вони отримали оваріально.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Морфологічні показники личинок кліща виду *Ixodes ricinus*: довжина тіла та ширина черевця змінюються майже пропорційно і при зростанні довжини тіла у 2,5 рази, ширина черевця зростає у 2,1 рази.

2. Личинки кліща виду *Ixodes ricinus* в умовах Тернопільщини нападають на людину у травні-червні та у серпні-вересні. У липні вони впадають в стан фізіологічної діпаузи у зв'язку із високою температурою та низькою відносною вологістю повітря.

3. Личинки собачого кліща здатні переносити збудників інфекційних захворювань: *Borrelia burgdorferi s.l.*, *Borrelia miyamotoi* і *Anaplasma phagocytophilum*. Частіше ці збудники зустрічаються разом, у поєднанні окремих видів борелій з анаплазмою.

Основні напрямки досліджень будуть спрямовані на подальше вивчення епідеміології окремих стадій різних видів кліщів та їх здатності передавати збудників людині.

References

1. Arzamasov, I. T. (1961). Iksodovye kleshchi [Ixodic ticks]. Minsk [in Russian].
2. Balashov, Iu. S. (1998). Iksodovye kleshchi – parazity i perenoschiki infektsii [Ixodes – parasites and vectors of infections]. Sankt-Peterburg : Nauka [in Russian].
3. Gaponov, S. P. & Trankvilevskii, D. V. (2008). Iksodovye kleshchi Voronezhskoi oblasti kak perenoschiki vzbuditelei infektsionnykh zabolovanii v XXI veke [Ixodic ticks of the Voronezh region as carriers of infectious diseases in the XXI century]. *Parazitologiya v XXI veke – problemy, metody, resheniia* : materialy IV Vserossiyskogo syezda parazitologicheskogo obshchestva pri RAN (vol. 1) (pp. 163–166). Sankt-Peterburg [in Russian].
4. Dvortcova, I. V. & Moskvitina, E. A. (2013). Ekologiya kleshcha *Ixodes ricinus* [Ecology of the mite *Ixodes ricinus*]. *Universum: Meditsina i farmakologiya*, 1 (1), 23–38.
5. Yemchuk, E. M. (1960). Fauna Ukrainy. Iksodovi kleshchi [Fauna of Ukraine. Ixod mites] (Vol. 25, iss. 1). Kyiv : Akademia Nauk URSS [in Ukrainian].
6. Efremova, G. A. & Iakovich, M. M. (2008). Iksodovye kleshchi na territorii natsionalnogo parka «Narochanskii» [Ticks on the territory of the National Park "Narochansky"]. *Parazitologiya v XXI veke – problemy, metody, resheniia* : materialy IV Vserossiyskogo syezda parazitologicheskogo obshchestva pri RAN (vol. 1) (pp. 243–246). Sankt-Peterburg [in Russian].
7. Kotti, B. K. (2005). Perenoschiki vzbuditelei prirodno-ochagovykh boleznei na Severnom Kavkaze [Carriers of pathogens of natural focal diseases in the North Caucasus]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*, 4, 102–108 [in Russian].
8. Olenev, N. O. (1931). Paraziticheskie kleshchi Ixodidae fauny SSSR [Parasitic mites Ixodidae fauna of the USSR]. Leningrad : Izdatelstvo Akademii nauk SSSR [in Russian].
9. Yakimenko, V. V., Malkova, M. G. & Shpynov, S. N. (2013). Iksodovyye kleshchi Zapadnoy Sibiri: fauna, ekologiya, osnovnyye metody issledovaniya [Ticks of Western Siberia: fauna, ecology, basic research methods]. Omsk : Omskii nauchnyi vestnik [in Russian].
10. Bowmann, A. & Nuttall, P. (2008). Ticks biology, disease and control. New York : Cambridge University Press.
11. Duijvendijk, G. Van, Coipan, C., Wagemakers, A., Fonville, M., Ersöz, J., Oei, An.

Sprong, H. (2016). Larvae of *Ixodes ricinus* transmit *Borrelia afzelii* and *B. miyamotoi* to vertebrate hosts. *Parasit Vectors*, 20 (9), 97.

12. Richter, D., Debski, A., Hubalek, Z., & Matuschka, F. R. (2012). Absence of Lyme disease spirochetes in larval *Ixodes ricinus* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 12 (1), 7–12.

13. Rizzoli, A., Silaghi, C., Obiegala, A., Rudolf, I., Hubálek, Z., Földvári, G. ... Kazimírová,

M. (2014). *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front Public Health.*, 2, 231–251.

14. Földvári, G. (2016). Life cycle and ecology of *Ixodes ricinus*: the roots of public health importance. *Ecology and prevention of Lyme borreliosis*, 4, 31–40.