

ПОШИРЕННЯ ЗБУДНИКА ТОКСОПЛАЗМОЗУ СЕРЕД ЧЛЕНИСТОНОГИХ РОДИНИ IXODIDAE

М. В. ГАЛАТ, кандидат ветеринарних наук, доцент

О. Б. БОЙКО, магістр*

**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: galat_mv@nubip.edu.ua

Анотація. Кліщі родини Ixodidae зареєстровані на всіх континентах земної кулі, включаючи Арктику і Антарктику. Дані представники членистоногих є як біологічними так і механічними переносниками збудників багатьох хвороб, зокрема, бабезіозу, бореліозу (хвороба Лайма) та багатьох інших, у тому числі і токсоплазмозу.

Метою проведеного дослідження було вивчення наявності ДНК збудника токсоплазмозу, *Toxoplasma gondii* серед популяції іксодових кліщів (родина Ixodidae) Голосіївського району м. Києва.

За результатами проведених досліджень серед кліщів родини Ixodidae, відібраних для досліджень, було диференційовано представників наступних родів: Ixodes, Dermacentor і Rhipicephalus.

Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі було досліджено іксодових кліщів на наявність збудника небезпечного зоонозу – токсоплазмозу – *Toxoplasma gondii*.

Таким чином, було ідентифіковано 20 % особин заражених токсоплазмами дорослих іксодових кліщів, 12,5 % особин на стадії німф і жодної зараженої личинки.

У подальшому планується продовжити дослідження з вивчення різних стадій розвитку іксодових кліщів, що поширені на території України, з використанням ПЛР на наявність у їхньому організмі збудників протозойних хвороб, переносниками яких вони є.

Ключові слова: іксодові кліщі, Ixodidae, *Toxoplasma gondii*, полімеразна ланцюгова реакція

Актуальність. Кліщі родини Ixodidae є небезпечними й широко поширеними ектопаразитами домашніх, диких і свійських тварин. У разі ураження кліщами спостерігаються алергічна реакція, анемія, виснаження, втрата продуктивності й приростів маси тіла продуктивних тварин. Крім цього, дані паразити відіграють важливу роль в епізоотичному процесі, оскільки

являються механічними й біологічними переносниками збудників багатьох хвороб людей і тварин [5, 6, с. 1741-1744; 7, с. 1136-1338].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. На території України поширені 6 родів іксодових кліщів. Для кожного роду, а також виду, характерний свій ареал існування, пов'язаний з екологічними й кліматичними особливостями [2, с. 98-109; 3, с. 91-95].

Зміна кліматичних умов у бік потепління, активна міграція тварин-хазяїв а також антропогенний вплив, спричинили зростання чисельності кліщів. Дане зрушення в організації екосистеми спричинило також зростання зареєстрованих випадків трансмісивних хвороб, участь у передачі яких беруть іксодові кліщі.

Серед особливо небезпечних і поширених захворювань є кліщовий вірусний енцефаліт, іксодові кліщові бореліози, кліщові рикетсіози людей, а також ерліхіоз, анаплазмоз, гемобартенельоз, бабезіоз тварин [4, с. 157-162].

Полімеразно-ланцюгова реакція дозволяє виявити ДНК збудників хвороб людини і тварин, векторами розповсюдження яких є кліщі родини *Ixodidae*. Так, на території Польщі з використанням даного методу було виявлено від 2,8 % до 12,7 % іксодових кліщів, що містили ДНК збудника протозойної хвороби *Toxoplasma gondii*, що є спільним для різних видів тварин і людини [1, с. 80-83; 8, с. 121-123].

Мета дослідження – вивчення наявності ДНК збудника токсоплазмозу серед популяції іксодових кліщів м. Києва.

Матеріали і методи дослідження. Роботу виконували в період з 2015 по 2016 рр. на базі кафедри паразитології та тропічної ветеринарії Національного університету біоресурсів і природокористування України і «Науково-дослідницького навчального центру діагностики хвороб тварин» Інституту ветеринарної медицини Національної Академії аграрних наук України.

Поширення іксодових кліщів, їх родову приналежність, співвідношення між кількістю самців і самок, залежність активності від температури навколишнього середовища вивчали в Голосіївському районі м. Києва, а саме в Голосіївському парку імені Максима Рильського і Національному комплексі Експоцентр України. Збір кліщів проводили в сезон активності ектопаразитів, за температури від +5°C до +25°C з використанням методу «білого прапора». Час відлову членистоногих кожного разу був однаковий і складав 120 хвилин.

Видову приналежність кліщів установлювали з використанням "Атласу іксодових кліщів" за редакцією І.М.Ганиева й А.А.Аливердиева [1968], а також "Атласу паразитів крові тварин і кліщів іксодід" за редакцією В.Ф. Капустіна [1955]. Для ідентифікації кліщів використовували мікроскоп МБР-3 і бінокулярну лупу МБИ-9.

Відібраних кліщів було поміщено у пробірки та з подальшим зберіганням при температурі +4°C до проведення подальших досліджень (рис. 1).



Відібрані для подальших дослідження кліщі роду *Ixodes*

Методом ПЛР у реальному часі було досліджено 100 екземплярів іксодових кліщів (5 проб) на наявність збудника *Toxoplasma gondii*. Для виділення ДНК-зразків використовували комерційні набори реактивів «АмпліПрайм ДНК-сорб-В». Додатково було використано лізуючий буфер.

Виділену ДНК використовували для проведення ПЛР-РЧ з наборами групспецифічних праймерів для *Toxoplasma gondii* (набір для виконання полімеразно-ланцюгової реакції «РеалБест ДНК *Toxoplasma gondii*»).

Результати дослідження та їх обговорення. В період з листопада 2015 по квітень 2016 року було зібрано 135 кліщів родини *Ixodidae* на території Голосіївського району міста Києва.

Серед кліщів, відібраних для досліджень, було диференційовано представників наступних родів: *Dermacentor*, *Ixodes* і *Rhipicephalus*. Це пов'язано з наявністю великої кількості змішаних рослинних насаджень в Голосіївському районі, що є природними біотопами для їх існування, а також слугують місцем проживання тварин-хазяїв цих паразитів.

Кліщі роду *Dermacentor* зустрічались переважно в кущових насадженнях, паразити роду *Ixodes* – в листях поблизу дерев. Висновків щодо місць локалізації кліщів роду *Rhipicephalus* зробити неможливо, оскільки цих паразитів зібрано недостатньо. Деяких іксодід було знято з одягу дослідника.

Більшість паразитів було зібрано поблизу стежок туристичних маршрутів й місць громадського відпочинку. Це свідчить про підвищену небезпеку можливості ураження кліщами у період їх активності, навіть у разі дотримання спеціально визначених шляхів і використання засобів захисту під час прогулянок в лісо-паркових зонах.

Найбільш поширеним в Голосіївському районі є рід *Ixodes*. Загалом за період проведення досліджень було відловлено 102

представники цього роду, що у відсотковому співвідношенні становить 76 % від усіх зібраних паразитів. Рід *Dermacentor* займає друге місце по розповсюдженню. Було диференційовано 31 особину даного роду, що становить 23 % відповідно. Рід *Rhipicephalus* зустрічається рідко й становить лише 1 % від усіх паразитів. За весь час було виявлено тільки 2 представники роду.

Кліщі кожного роду були представлені особинами різної статі, що встановлювалось відповідно їх морфологічних особливостей, а саме розмірів і форми дорсального щитка. Загалом серед 135 паразитів зареєстровано 60 самців і 75 самок. Серед представників роду *Ixodes* було відмічено 50 самців і 52 самки, роду *Dermacentor* – 8 самців і 23 самки, рід *Rhipicephalus* був представлений виключно самцями.

Іксові кліщі відібрані для дослідження буди представлені різними стадіями розвитку: личинками, німфами, імаго.

За результатами проведених досліджень з метою виявлення ДНК збудника *Toxoplasma gondii* в організмі іксових кліщів, як імовірного джерела зараження тварин і людини на токсоплазмоз, було встановлено 20 % або 10 особин заражених токсоплазмами дорослих кліщів, 12,5 % (5 особин) німф і жодної зараженої личинки (табл. 1).

Отже, за результатами досліджень було встановлено наявність ДНК збудника *T. gondii* в організмі іксових кліщів, що імовірно може бути одним з джерел інвазування різних видів тварин і людини токсоплазмами.

1. Зараженість іксових кліщів збудником *Toxoplasma gondii* (n=100)

Стадія розвитку іксового кліща	Кількість досліджених особин	Виявлено ДНК збудника <i>T. gondii</i>		Не виявлено ДНК збудника <i>T. gondii</i>	
		кількість особин	у %	кількість особин	у %
Імаго	50	10	20	60	80
Німфа	40	5	12,5	15	87,5
Личинка	10	0	-	0	-

Висновки і перспективи подальших досліджень. За дослідження іксових кліщів Голосіївського району м. Києва виявлено наявність паразитів родів *Ixodes*, *Dermacentor* і *Rhipicephalus*.

За дослідження методом ПЛР-РЧ кліщів, відловлених на території Голосіївського району міста Києва, на наявність ДНК збудника протозойної хвороби *Toxoplasma gondii*, встановлено зараженість 20 % або 10 особин дорослих кліщів, 12,5 % (5 особин) німф і жодної зараженої личинки зі 100 проаналізованих екземплярів.

Отримані результати свідчать про важливу роль іксових кліщів в епізоотичному ланцюгу токсоплазмозу, як резервуарів збудника і джерел інвазування різних видів тварин і людини на цю хворобу.

Список літератури

1. Asman M. Detection of protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and their co-existence in ticks (Acari: Ixodida) collected in Tarnogórski district (Upper Silesia, Poland) /M. Asman, K. Solarz, P. Cuber, T. Gasior, P. Szilman, E. Tondas, A. Matzullo, N. Kusion, K. Florek// *Ann Agric Environ Med.* – 2015. – №22 (1). –P.80-83.
2. Акімов І. А. Динаміка чисельності і деякі екологічні особливості іксових кліщів урбанізованих ландшафтів м.Києва з початку XXI століття / І. А. Акімов, І. В. Небогаткін. // Науковий вісник Національного педагогічного університету імені М. П. Драгоманова. – 2011. – №3. – С. 98–109.
3. Акимов И. А. Иксовые клещи г.Києва - урбазоологические и эпизоотологические аспекты / И. А. Акимов, И. В. Небогаткин. // *Вестник зоологии.* – 2002. – №36(1). – С. 91–95.
4. Мазанний О. В. Бабезіоз овець у степовій зоні Сходу України / О. В. Мазанний, Ю. О. Приходько, В. І. Бирка. // Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України "Кримський агротехнічний університет". – 2013. – №155. – С. 157–162.
5. Chao L. L. First detection and molecular identification of *Borrelia garinii* spirochete from *Ixodes ovatus* tick ectoparasitized on stray cat in Taiwan /L. L. Chao, L.L. Lui, T.Y. Ho, C.M. Shih// *PLoS One.* – 2014. – 9(10). Джерело: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=First+detection+and+molecular+identification+of+Borrelia+garii+spirochete+from+Ixodes+ovatus+tick+ectoparasitized+on+stray+cat+in+Taiwan>.
6. Randolph S. E. Fragile transmission cycles of tick-borne encephalitis virus may be disrupted by predicted climate change / S. E. Randolph, D. J. Rogers. // *Proceedings of the royal society b.* – 2000. – №267(1454). – P. 1741–1744.
7. Skarpaas T. Tickborne Encephalitis Virus, Norway and Denmark / T. Skarpaas, I. Golovljova, S. Vene, U. Ljostad., H. Sjaursen, A. Plyusnin, A. Lundkvist. // *Emerging infectious diseases.* – 2006. – №12. – P. 1136–1138.
8. Sroka J. *Ixodes ricinus* as a potential vector of *Toxoplasma gondii* / J. Sroka, J. Chmielewska-Badora, J. Dutkiewicz// *Ann Agric Environ Med.* – 2003. – №10(1). – P.121-123.

References

1. Asman M., Solarz K., Cuber P., Gasior T., Szilman P., Tondas E., Matzullo A., Kusion N., Florek K. (2015). Detection of protozoans *Babesia microti* and *Toxoplasma gondii* and their co-

existence in ticks (Acari: Ixodida) collected in Tarnogórski district (Upper Silesia, Poland) Ann Agric Environ Med., № 22 (1), 80-83.

2. Akimov I. A., Nebohatkin I.V. (2011). Dynamics of some ecological features Ixodes ticks urban landscapes Kiev since the beginning of the XXI century. Naukovyi visnyk Natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni M. P. Drahomanova, № 3, 98–109. (in Ukraine)

3. Akimov I. A., Nebohatkin I.V. (2002). Ixodes ticks of Kyiv – urbanized zoological and epizootological aspects. Vestnyk zoolohyy, № 36 (1), 91–95. (in Ukraine)

4. Mazannyi O.V., Prykhodko Iu.O., Byrka V.I. (2013). Babesiosis of sheep in the steppe zone of Eastern Ukraine. Naukovi pratsi Pivdennoho filialu Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy "Krymskyi ahrotekhnichniy universytet", № 155, 157–162. (in Ukraine)

5. Chao L. L., Lui L. L., Ho T. Y., Shih C. M. (2014). First detection and molecular identification of Borrelia garinii spirochete from Ixodes ovatus tick ectoparasitized on stray cat in Taiwan. PLoS One, 9(10).

Джерело:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=First+detection+and+molecular+identification+of+Borrelia+garnii+spirochete+from+Ixodes+ovatus+tick+ectoparasitized+on+stray+cat+in+Taiwan>.

6. Randolph S. E., Rogers D. J. (2000). Fragile transmission cycles of tick-borne encephalitis virus may be disrupted by predicted climate change. Proceedings of the royal society b, № 267 (1454), 1741–1744.

7. Skapaas T., Golovljova I., Vene S., Ljostad U., Sjursen H., Plyusnin A., Lundkvist A. (2006). Tickborne Encephalitis Virus, Norway and Denmark. Emerging infectious diseases, № 12, 1136–1338.

8. Sroka J., Chmielewska-Badora J., Dutkiewicz J. (2003). Ixodes ricinus as a potential vector of Toxoplasma gondii. Ann Agric Environ Med., № 10 (1), 121-123.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТОКСОПЛАЗМОЗА СРЕДИ ЧЛЕНИСТОНОГИХ СЕМЕЙСТВА IXODIDAE

О. Б. Бойко, М. В. Галат

Аннотация. Клещи семейства Ixodidae зарегистрированы на всех континентах земного шара, включая Арктику и Антарктику. Данные представители членистоногих являются как биологическими, так и механическими переносчиками возбудителей многих болезней, в частности, бабезиоза, боррелиоза (болезнь Лайма), и многих других, в том числе и токсоплазмоза.

Целью проведенного исследования было изучение наличия ДНК возбудителя *Toxoplasma gondii* среди популяции иксодовых клещей (семейство Ixodidae) Голосеевского района г. Киева.

По результатам проведенных исследований среди клещей семейства *Ixodidae*, отобранных для исследований, было дифференцировано представителей следующих родов: *Ixodes*, *Dermacentor* и *Rhipicephalus*.

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени были исследованы иксодовые клещи на наличие возбудителя опасного зооноза – токсоплазмоза – *Toxoplasma gondii*.

Таким образом, было идентифицировано 20 % особей зараженных токсоплазмами взрослых иксодовых клещей, 12,5 % особей - на стадии нимф и ни одной зараженной личинки.

В дальнейшем планируется продолжить исследования по изучению различных стадий развития различных видов иксодовых клещей, которые распространены на территории Украины, с использованием ПЦР на наличие в их организме возбудителей протозойных болезней, переносчиками которых они являются.

Ключевые слова: иксодовые клещи, *Ixodidae*, *Toxoplasma gondii*, полимеразная цепная реакция

SPREADING OF TOXOPLASMOSIS AGENT IN FAMILY IXODIDAE POPULATION

O. B. Boyko, M. V. Galat

Abstract. *Ixodidae* family ticks are registered on every continent of the globe, including the Arctic and Antarctic. These representatives of arthropods are both biological and mechanical vectors of agents for many diseases, including babesiosis, borreliosis (Lyme disease), and many others, including toxoplasmosis.

The aim of the study was to investigate the presence of DNA of the agent of toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, among the population of ticks (family *Ixodidae*) Holoseievski district of Kiev.

The results of the research among ticks *Ixodidae* family selected for the study was differentiated representatives of the following genera: *Ixodes*, *Dermacentor* and *Rhipicephalus*.

With the help of polymerase chain reaction (PCR) in real time ticks were examined for the presence of ticks dangerous zoonosis agent of toxoplasmosis *Toxoplasma gondii*.

Thus, it was identified 20 % of the individuals infected with *Toxoplasma* adult ticks, 12.5 % of the nymphs individuals and no infected larval stage.

In the future we plan to continue the study on the different stages of development of different types of ticks that are spread on the territory of Ukraine, with the use of PCR for the presence of agents protozoal diseases.

Key words: *ixodes ticks, Ixodidae, Toxoplasma gondii, polymerase chain reaction*