

УДК 576.893.192.6+578.833.26.083.2

**ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ ИНФЕКЦИИ,  
ПЕРЕНОСИМЫЕ КЛЕЩАМИ:  
ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ  
ТУНКИНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ**

© 2021 г. **О. В. Мельникова<sup>а,\*</sup>, Р. В. Адельшин<sup>а,b</sup>,  
М. Г. Бадмажапов<sup>с</sup>, А. Н. Бондарюк<sup>а</sup>, К. В. Лопатовская<sup>а</sup>,  
Е. А. Сидорова<sup>а</sup>, Ю. Н. Трушина<sup>а</sup>, Н. В. Яковчиц<sup>а</sup>,  
Н. И. Аюгин<sup>а</sup>, Е. И. Андаев<sup>а</sup>**

<sup>а</sup>ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт  
Роспотребнадзора, ул. Трилиссера, 78, Иркутск, 664047 Россия

<sup>б</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет,  
ул. К. Маркса, 1, Иркутск, 664003 Россия

<sup>с</sup>Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия  
в Кабанском районе», ул. Каландаришвили, 20, с. Кырен, 671010 Россия

\*e-mail: melnikovaovit@gmail.com

Поступила в редакцию 23.11.2020 г.

После доработки 30.06.2021 г.

Принята к печати 15.07.2021 г.

В течение трех сезонов (2017–2019 гг.) иксодовых клещей из Тункинского района Республики Бурятия исследовали на спектр трансмиссивных патогенов. В порядке возрастания частоты встречаемости выявлены маркеры возбудителей клещевого энцефалита (КЭ), моноцитарного эрлихиоза (МЭЧ), гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ), иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) и клещевых риккетсиозов (КР). От двух до четырех маркеров одновременно обнаружили в 15.2–73.8% суспензий в зависимости от набора исследуемых агентов. Показано наличие сочетанных природных очагов «клещевых инфекций». Отмечены различия зараженности переносчиков по пространственно-временным, видовым, возрастным и половым параметрам. Генотипированы изоляты вируса КЭ, определена видовая принадлежность выявленных боррелий.

**Ключевые слова:** Республика Бурятия, Тункинская долина, иксодовые клещи, вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), анаплазмы, боррелии, эрлихии, риккетсии

**DOI:** 10.31857/S0031184721050057

Тункинский район Республики Бурятия – один из наиболее популярных туристских активов Восточной Сибири, привлекающих красотой горных пейзажей и целебными источниками. При числе коренных жителей около 21 тыс. человек район принимает ежегодно более полумиллиона российских и зарубежных туристов. Район занимает Саяно-Прибайкальскую часть западной Бурятии и расположен в Тункинской котловине, которая является продолжением на запад Байкальской рифтовой зоны. В результате антропогенного влияния на протяжении длительного времени геосистемы котловины представлены в основном вторичными лесами (Атутова, 2013). На территории района располагается Тункинский национальный парк, явившийся первым в России опытом совмещения границ национального парка с границами всего административного района. Территория парка занимает Тункинскую долину и прилегающие к ней горные массивы Восточного Саяна и хребта Хамар-Дабан. Тункинский район входит в Перечень административных территорий Российской Федерации, эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ) (Роспотребнадзор, 2020). Анализ обращений людей по поводу присасывания клеща в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск, Россия) показал, что больше половины случаев «укусов», имевших место на территории Республики Бурятия, приходится именно на Тункинский район, наиболее посещаемый в летнее время туристами и отдыхающими (Данчинова и др., 2012, 2015). По результатам исследования клещей, снятых с пострадавших от их присасывания, показана циркуляция на данной территории не только вируса клещевого энцефалита (КВЭ), но также анаплазм (А), боррелий (Б), риккетсий (Р) и эрлихий (Э). В клещах отмечалось несколько патогенов одновременно (Данчинова и др., 2006, 2012, 2015; Ляпунов и др., 2016). Однако в доступных нам источниках не удалось обнаружить географической привязки зараженности клещей, данных о детекции клещевых патогенов в особях переносчика разного пола и разных возрастных морфологических фаз. Цель данной работы – оценить распространенность на территории Тункинского района возбудителей инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, и их ко-циркуляцию в природных очагах, выявить различия в инфицированности переносчиков по виду, половому и возрастному составу популяций.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

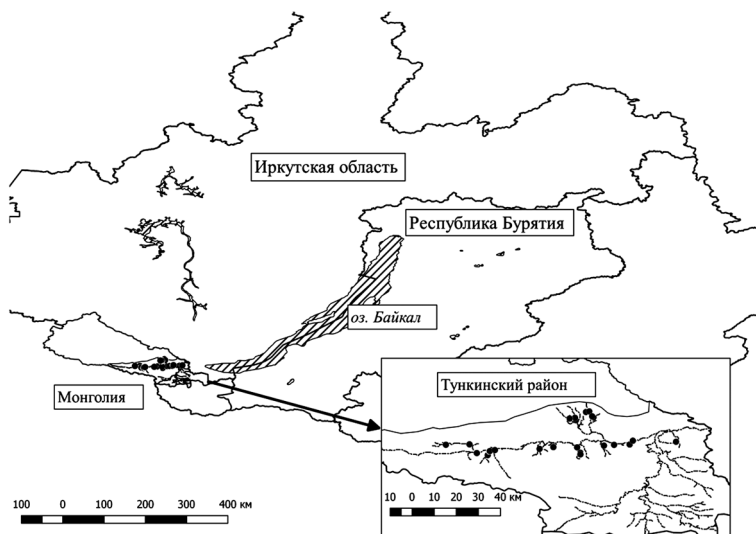
Иксодовых клещей собирали на флаг во вторую декаду июня в течение трех последовательных сезонов (2017–2019 гг.) на маршрутах, проложенных на разных участках Тункинской долины (табл. 1, рис. 1). Определяющими факторами при выборе точек учета и сбора членистоногих (окрестности районного центра – с. Кырен, курорты Аршан, Жемчуг, Нилова Пустынь, местность Хонгор-Уула, туристические тропы у подножья Саян на участке с. Тагархай – р. Зун-Хандагай) служили частота их посещения местными жителями и туристами, а также информация сотрудников Филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия в Кабанском районе» о локациях, где имели место массовые случаи присасывания клещей

и/или случаи заболевания КВЭ. Координаты мест сбора материала определяли с помощью спутникового навигатора GPSMAP 76CSx в системе глобального позиционирования.

Всего на флаг с растительности собрано 3076 экз. иксодовых клещей, в том числе 5 *Dermacentor silvarum* Olenov, 1932 и 9 *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844. Остальные 3062 экз., включая 139 нимф, относились к виду таежный клещ, *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930 (Филиппова, 1977, 1997). Кроме того, с людей и животных (лошадей и собак) снята 21 напитавшаяся самка таежного клеща и одна присосавшаяся самка *D. silvarum*.

Собранных клещей доставляли живыми во влажных бинтах в лабораторию, где до исследования хранили в холодильной камере при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Имаго клещей анализировали индивидуально, приготавливая из них суспензию на физиологическом растворе (по 0.5 мл на одного клеща); нимф с одного учетного маршрута объединяли в пулы. Наличие антигена (АГ) ВКЭ в суспензиях выявляли иммуноферментным методом с помощью набора реагентов ИФА ТС АГ ВКЭ («Микроген», Томск) в соответствии с инструкцией производителя. Учет результатов проводили визуально и с помощью иммуноферментного анализатора IMARK Bio-RAD при длине волны 450 нм. Пробу считали положительной, если отношение величины ее экстинкции к величине экстинкции нормального контроля было больше или равно 2.1. Результаты меньше 2.1, но отличающиеся визуально от нормального контроля, принимали за сомнительные (Воллер и др., 1977) и вместе с положительными использовали в дальнейшей работе с целью изоляции вируса.

Выделение вируса проводили на новорожденных беспородных белых мышах, по общепринятой методике (Вирусология, 1988). За животными наблюдали 21 день. У заболевших зверьков извлекали головной мозг, руководствуясь «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (утверждены Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 708н от 23.08.2010).



**Рисунок 1.** Места сбора (обозначены точками) иксодовых клещей в Тункинском районе Республики Бурятия.

**Figure 1.** Locations of the ticks' collection in Tunkinsky district, Republic of Buryatia. Points of collection are marked by dots.

**Таблица 1.** Места проведения учетов и сбора на флаг иксодовых клещей на территории Тункинского района Республики Бурятия (2017–2019 гг.)

**Table 1.** Localities of flagging and recording of hard ticks on the territory of Tunkinsky district, Republic of Buryatia (2017–2019)

Участок	Координаты точек <sup>1</sup>	Высота, м над ур. м.	Количество учетов	Собрано клещей <sup>2</sup>	Средняя численность клещей в данной точке <sup>3</sup>
86-й км трассы А333, поворот на Аршан	51.695 N, 102.532 E	765	1	0	0
	51.700 N, 102.598 E	742	4	0	0
С. Аршан с окрестностями	51.914 N, 102.423 E	853	4	0	0
	51.911 N, 102.420 E	875	8	4	1.8
	51.912 N, 102.416 E	898	4	5	2.5
	51.916 N, 102.437 E	814	4	0	0
	51.877 N, 102.464 E	753	7	18	2.7
	51.685 N, 102.205 E	750	2	0	0
Окр. с. Жемчуг	51.684 N, 102.359 E	738	2	1	2.9
	51.702 N, 102.699 E	764	4	29	12.4
Окр. с. Зактуй	51.727 N, 102.719 E	727	4	68	29.1
	51.674 N, 102.115 E	788	8	64	10.3
Окр. с. Кырен	51.666 N, 101.826 E	847	2	8	24
Река Б. Зангисан	51.634 N, 101.780 E	930	31	909	83.8
Река М. Зангисан	51.666 N, 101.803 E	937	10	251	55.0
Междуречье М. и Б. Зангисанов	51.703 N, 101.662 E	913	12	141	17.9
Окр. пос. Ниловка	51.884 N, 102.456 E	745	4	2	0.7
Окр. с. Тагархай	51.859 N, 102.351 E	752	4	11	11
	51.874 N, 102.345 E	750	7	334	73.9
	51.870 N, 102.310 E	751	4	79	28.8
	51.647 N, 101.709 E	867	11	63	13.6
Окр. с. Туран	51.701 N, 101.509 E	944	4	0	0
Окр. у. Хойто-Гол	51.649 N, 102.380 E	760	13	320	35.0
Местность Хонгор-Уула	51.639 N, 102.380 E	896	11	81	16.1
	51.720 N, 102.999 E	822	20	688	61.2
Река Шабартайка			185	3076	
Итого					

Примечания. <sup>1</sup> – в десятичных градусах; <sup>2</sup> – общее число особей разного пола, вида и фаз онтогенеза; <sup>3</sup> – численность имаго таежного клеща, экз. на флаго-час.

Часть произвольно выбранных суспензий с разных участков исследовали на наличие генетических маркеров ВКЭ, А, Б, Р и Э. рНК/ДНК из клещевых и мозговых суспензий выделяли, используя комплект реагентов «РИБО-преп»; обратную транскрипцию проводили, используя комплект «РЕВЕРТА-Л»; геномный материал ВКЭ выявляли с помощью ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Результаты учитывали на термоциклере C1000™ Bio-Rad CFX96™ (США). ДНК Р выявляли с помощью набора реактивов ПЦР-РВ (ЗАО «Синтол», Москва) и праймерами, фланкирующими фрагмент гена *gltA* длиной 380 п. н. (Roux et al., 1997; Roux, Raoult, 2000), с последующей электрофоретической детекцией в 2% агарозном геле. ПЦР-продукт гена Е ВКЭ получали с помощью набора реагентов ПЦР-РВ («Синтол», Москва) и праймеров (Adelshin et al., 2015). Для определения видовой принадлежности боррелий использованы праймеры, фланкирующие фрагмент гена 16S рРНК длиной 650 п. н. Полученные ПЦР-продукты визуализировали в 1% агарозе и затем выделяли согласно стандартной методике (Маниатис и др., 1984) с некоторыми модификациями. Секвенирование ПЦР-продуктов проводили с использованием набора реактивов ABI Prism BigDye Terminator v.1.1 Cycle Sequencing Kit на приборе Genetic Analyzer 3500 xL (Applied Biosystems). Анализ электрофореграмм и выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе BioEdit v. 7.0.5.3 (Hall, 1999).

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами, используя программный продукт Microsoft Excel 2007. За статистически достоверный принимали уровень значимости  $P < 0.05$ .

Для построения карты использовались наборы открытых геоданных OpenStreetMap (<https://mydata.biz>), Natural Earth (<https://www.naturalearthdata.com/>) и HYDROsheds (<https://hydrosheds.org/>). Картографирование точек сбора материала по географическим координатам производили с использованием модульного расширения *xuToPoint* программы QGIS 2.18.28.

### **Краткая эколого-эпидемиологическая характеристика района исследований**

Тункинский район занимает Саяно-Прибайкальскую часть западной Бурятии. На западе и юго-западе по массиву Мунку-Сардык и юго-восточным отрогам Большого Саяна проходит государственная граница России и Монголии. Северную часть района занимает Тункинская долина, уникальная своими целебными источниками. Она протянулась в широтном направлении на 200 км, постепенно поднимаясь до 1200 м над ур. м. По ложу долины течет главная река района – Иркут. Климат района резко континентальный, характеризуется большими суточными и годовыми амплитудами температур, небольшим количеством годовых осадков. Расположение на стыке двух зон, Окино-Саянской горнотаежно-гольцовой и Хамар-Дабанской горнотаежнокотловинной, является уникальным явлением, обеспечивающим большое разнообразие ландшафтов: от степей Северной Монголии до альпийских лугов и нивального пояса. Согласно районированию ареала КЭ (Коренберг, Ковалевский, 1981; Коренберг и др., 2013) Тункинская долина входит в Хамар-Дабанский очаговый регион

Среднесибирско-Забайкальской группы. Акарофауна представлена степными, лесостепными и лесными видами родов *Dermacentor*, *Haemaphysalis* и *Ixodes*, с преобладанием таежного клеща *I. persulcatus* (Данчинова и др., 2006), основного переносчика эпидемиологически значимых для Байкальского региона заболеваний – КЭ и иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), регистрируемых на территории района ежегодно.

В Республике Бурятия регистрируется средний уровень заболеваемости клещевым энцефалитом, при этом ежегодные показатели в 1.8–3.4 раза превышают аналогичные по стране (Сильченко и др., 2015). По информации Роспотребнадзора РФ заболеваемость ИКБ и КЭ в среднем по стране за последние 10 лет составляет  $3.67 \pm 0.27$  и  $1.29 \pm 0.18$  на 100 тыс. населения соответственно, а показатель обращаемости –  $327.9 \pm 35$  на 100 тыс. населения (Веригина, Пакскина, 2019). Из сведений о заболеваемости КЭ и ИКБ, а также обращаемости населения по поводу присасывания клещей в Тункинском районе за последние пять лет (2015–2019 гг.) (табл. 2) очевидно, что показатели кратно превышают общероссийские: по обращаемости – в 2.6–4.2 раза, а по заболеваемости КЭ – в 3.7–22.4 раза. По нашим данным (неопубликованная информация; свидетельства о государственной регистрации базы данных № 2013620219 и 2013620220; 2013 г., № 2020620324; 2020 г.), в эти же годы в Республике Бурятия заразились клещевыми инфекциями 29 туристов и отдыхающих из г. Иркутска, 21 из них – при посещении Тункинского района. Вышеизложенное определяет актуальность изучения природных очагов клещевых инфекций на данной территории.

**Таблица 2.** Обращаемость населения по поводу присасывания клещей и заболеваемость клещевыми инфекциями в Тункинском районе Республики Бурятия (2015–2019 гг.)

**Table 2.** Number of medical visits for the treatment about tick bite, and the prevalence of tick-borne diseases in Tunkinsky district, Republic of Buryatia (2015–2019)

Год	Обращений с присасыванием клеща		Заболеваемость КВЭ		Заболеваемость ИКБ	
	Абс.	На 100 тыс.	Абс.	На 100 тыс.	Абс.	На 100 тыс.
2015	176	846.4	4	19.2	1	4.8
2016	222	1067.6	6	28.9	2	9.6
2017	218	1048.3	1	4.8	0	0
2018	289	1389.7	4	19.2	0	0
2019	212	1019.5	5	24.0	0	0

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Обилие клещей на разных участках обследуемой территории сильно варьировало. Пять особей лесостепного вида *D. silvarum* были собраны на флаг только однажды, в 2018 г. в окрестностях курорта Аршан. Клещи *H. concinna* попали в сборы лишь на участке Тагархай – Зун-Хандагай в 2019 г. Средняя численность таежного клеща в разных точках учета за три сезона исследований показана в табл. 1. В первый сезон

работы (2017 г.) был проведен рекогносцировочный скрининг; в результате выявлены участки с достаточно высокой численностью переносчика, которые и обследовали повторно в 2018 и 2019 гг. Проведение учетов на обследуемой территории ежегодно в одно и то же время (в начале второй декады июня), позволяет корректно сравнить численность таёжного клеща на нескольких ключевых участках в течение всего периода наблюдений. Из данных, показанных в табл. 3, видно, что на конкретных участках обилие *I. persulcatus* было довольно стабильным, за исключением 2018 г. в окрестностях Ниловки, когда учеты проводили во время внезапного сильного дождя. Как показали дальнейшие исследования, именно на этих участках были отловлены клещи, из которых удалось выделить ВКЭ (табл. 4).

**Таблица 3.** Обилие таежного клеща на ключевых участках в течение исследуемого периода (2017–2019 гг.)

**Table 3.** The taiga tick abundance in key areas during the study period (2017–2019)

Участок	Численность таежного клеща, экз. на флаго-час			
	2017 г.	2018 г.	2019 г.	Средняя
Ниловка	18.5	6.0	17.6	17.9
Хонгор-Уула	37.6	23.6	23.2	28.5
Шабартайка	58.4	58.3	66.5	61.2
М. Зангисан	н/д	88.9	69.4	80.5

**Таблица 4.** Места выявления клещей с антигеном вируса клещевого энцефалита и изоляции штаммов (Тункинский район Республики Бурятия, 2017–2019 гг.)

**Table 4.** The localities of ticks with the tick-borne encephalitis virus antigen detection and isolation of strains (Tunkinsky district, Republic of Buryatia 2017–2019)

Место отлова клеща	Выявлен АГ ВКЭ (абс.)	Выявлена РНК ВКЭ (абс.)	Получено изолятов (абс.)
Ниловка	3	1	0
Хонгор-Уула	4	3	4
Шабартайка	5	4	2
М. Зангисан	10	6	6

На наличие АГ ВКЭ исследовано 2725 суспензий голодных клещей, получено 22 положительных результата, все – *I. persulcatus*; пять самцов, остальные – самки. Вирусофорность по результатам ИФА за исследуемый период в целом составила  $0.8 \pm 0.17\%$  и варьировала по годам следующим образом: 2017 г. –  $0.9 \pm 0.38\%$ , 2018 г. –  $1.3 \pm 0.37\%$ , 2019 г. –  $0.3 \pm 0.17\%$ .

Все суспензии, показавшие положительный результат в ИФА, верифицировали в ПЦР. Доля совпадений составила 63.6%.

Из положительных по результатам ИФА суспензий получено 12 изолятов ВКЭ, из них один РНК-изолят – непосредственно из клещевой суспензии, остальные – на сосунках белых мышей. Все изоляты по результатам генотипирования отнесены к сибирскому субтипу ВКЭ, группе Васильченко (№ доступа в Международной базе GenBank MG675052, MT495427, MT495428, MT333843, MT333844, MT344092, MN114636, MN114637, MT113374–MT113377). География положительных находок АГ ВКЭ и изолятов вируса показана в табл. 4.

При исследовании суспензий в ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) на четыре инфекции маркеры одного или более патогенов обнаружены в 232 из 414 исследованных проб (56.0%). При исследовании на пять инфекционных агентов (все вышеперечисленные плюс риккетсии) – 120 из 122 исследованных (98.4%). Поскольку при поиске генетического материала боррелий и риккетсий были использованы родоспецифические праймеры, термин «патоген» используется условно, т.к. не все микроорганизмы из родов *Rickettsia* и *Borrelia* патогенны для человека. В целом генетический материал Р выявлен в 92.6% исследованных проб голодных клещей, Б – 47.1%, А и Э – в 15.0 и 6.8%, соответственно. РНК ВКЭ выявилась в 1.7% проанализированных проб. При исследовании суспензий на 4 патогена (А, Б, Э и ВКЭ) маркеры двух и более патогенов встречались в 15.2% случаев в следующих сочетаниях: А+Б (57.1% от всех «микстов»), далее – по мере убывания частоты встречаемости – Э+Б (23.8%), А+Э+Б (7.9%), ВКЭ+Б (4.8%), А+Э (3.2%), ВКЭ+А+Б и ВКЭ+Э+Б – по 1.6%. При исследовании на пять патогенов доля «микстов» составила 73.8%. Чаще всего встречалось сочетание Б+Р (64.4% от всех ко-инфекций), значительно реже – А+Б+Р (12.2%) и, по мере убывания, Э+Б+Р – 4.4%, Э+Р и А+Э+Б+Р – по 3.3% от числа микст-инфицированных суспензий; Э+Б, ВКЭ+Б+Р, ВКЭ+Э+Б+Р – по 2.2%. По одному разу выявились сочетания А+Р, А+Б, ВКЭ+Р, А+Э+Р, ВКЭ+А+Б+Р.

Генотипировано 18 суспензий таежного клеща, содержащих генетический материал боррелий. Идентифицированы патогенные спирохеты видов *B. garinii* ( $n = 10$ ), *B. afzelii* ( $n = 5$ ) и *B. miyamotoi* ( $n = 3$ ). Представитель группы клещевых возвратных лихорадок *B. miyamotoi* обнаружен в клещах, собранных в междуречье Малого и Большого Зангисанов и вдоль берега Малого Зангисана, а также на участке Тагархай – Зун-Хандагай (№ доступа в международной базе GenBank MW216951, MW216954, MW216957); *B. afzelii* – в междуречье М. и Б. Зангисанов, вдоль берега М. Зангисана, в окрестностях Зактуя, а также в напитавшейся самке, снятой с лошади в районе р. Шабартайки (MW216946, MW216956, MW216958, MW218483, MW218485). Наиболее распространенный в евразийской части ареала ИКБ вид *B. garinii* был выявлен в голодных клещах почти со всех ключевых участков (Зактуй, междуречье М. и Б. Зангисанов, М. Зангисан, Туран, Тагархай – Зун-Хандагай, Хонгор-Уула,



Шабартайка) (MW216947–MW216950, MW216952, MW216953, MW216955, MW218482, MW218484), а также в самке, напитавшейся на человеке, у которого впоследствии на месте присасывания образовался единственный патогномичный признак иксодового клещевого боррелиоза – мигрирующая эритема (MW216944).

Зараженность переносчиков варьировала как по годам, так и по участкам. В динамике за исследуемый период отмечено существенное увеличение доли клещей, содержащих маркеры боррелий (с 38.3 до 61.4%,  $t = 4.19$ ,  $df = 314$ ,  $P < 0.001$ ) (табл. 5). Вирусофорность переносчиков по результатам ПЦР в два раза превышала таковую по результатам ИФА, проявляя, в то же время, одинаковые тенденции с самым высоким показателем в 2018 г. и самым низким – в 2019 г. При этом разница оказалась статистически достоверна только для показателя вирусофорности по результатам ИФА между 2018 и 2019 гг. ( $1.3 \pm 0.37$  и  $0.3 \pm 0.17\%$ , соответственно,  $t = 2.46$ ,  $df = 2081$ ,  $P < 0.05$ ).

**Таблица 5.** Обнаружение маркеров исследуемых патогенов в клещах, собранных в Тункинском районе Республики Бурятия в 2017–2019 гг.

**Table 5.** Detection of the pathogens under study in the ticks, collected in Tunkinsky district, Republic of Buryatia, during 2017–2019

Годы	Доля (% $\pm m$ ) положительных среди исследованных					
	АГ ВКЭ	РНК ВКЭ	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.	<i>Ehrlichia chaffeensis</i> / <i>E. muris</i>	<i>Rickettsia</i> spp.
2017	0.9 $\pm$ 0.38	2.0 $\pm$ 1.11	12.3 $\pm$ 3.29	38.3 $\pm$ 3.92	5.2 $\pm$ 1.79	н/и*
2018	1.3 $\pm$ 0.37	2.9 $\pm$ 1.67	15.7 $\pm$ 3.63	38.2 $\pm$ 4.81	4.9 $\pm$ 2.14	86.8 $\pm$ 5.48
2019	0.3 $\pm$ 0.17	0.6 $\pm$ 0.63	17.1 $\pm$ 3.76	61.4 $\pm$ 3.87	9.5 $\pm$ 2.33	95.2 $\pm$ 2.32
За весь период	0.8 $\pm$ 0.17	1.7 $\pm$ 0.63	15.0 $\pm$ 3.57	47.1 $\pm$ 2.45	6.8 $\pm$ 1.23	92.6 $\pm$ 2.37

Пр и м е ч а н и е. \* – исследования на наличие РНК риккетсий не проводили.

Несмотря на видимые различия показателей по обследованным участкам (табл. 6), статистически значимой по сравнению со средним показателем по выборке (15.0  $\pm$  3.57%) оказалась только пораженность анаплазмами клещей, собранных в окрестностях п. Ниловки и с. Аршан ( $0 \pm 3.97$  и  $3.9 \pm 3.77\%$ , соответственно,  $t = 2.88$  и  $2.14$ ,  $df = 438$  в обоих случаях;  $P < 0.01$  для Ниловки и  $P < 0.05$  для Аршана).

Анализ зараженности клещей исследованными патогенами по полу выявил статистически значимые различия в двух случаях: при детекции риккетсий и эрлихий, чьи маркеры чаще встречались у самок. Доля самок, содержащих маркеры Р, составила  $97.8 \pm 2.10\%$  против  $84.8 \pm 4.68\%$  у самцов ( $t = 2.56$ ,  $df = 104$ ,  $P < 0.05$ ); по содержанию ДНК Э показатели составили, соответственно,  $7.7 \pm 0.71$  и  $5.7 \pm 0.67$  ( $t = 2.01$ ,  $df = 392$ ,  $P < 0.05$ ).

**Таблица 6.** Обнаружение маркеров исследуемых патогенов в клещах, собранных с разных участков (Тункинский район Республики Бурятия 2017–2019 гг.)

**Table 6.** The detection of the pathogens under study in ticks, collected in different localities (Tunkinsky district, Republic of Buryatia 2017–2019)

Местность	Доля (% ± m) положительных среди исследованных				
	ВКЭ	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.	<i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i>	<i>Rickettsia</i> spp.
Аршан	0 ± 3.77	3.9 ± 3.77	46.2 ± 9.78	3.9 ± 3.77	100.0 ± 19.36
Зактуй	0 ± 2.17	9.3 ± 4.43	44.2 ± 7.57	7.0 ± 3.88	н/и
М. Зангисан	0 ± 1.92	26.5 ± 6.31	42.9 ± 7.07	10.2 ± 4.32	88.9 ± 7.86
Междуречье	4.2 ± 2.88	10.4 ± 4.41	50.0 ± 7.22	10.4 ± 4.41	95.5 ± 4.55
Ниловка	3.9 ± 3.77	0 ± 3.97	42.3 ± 9.69	9.7 ± 5.23	100.0 ± 19.36
Тагархай – Зун-Хандагай	0 ± 1.69	14.3 ± 4.68	51.8 ± 6.68	5.4 ± 3.01	90.0 ± 5.77
Туран	0 ± 3.84	21.7 ± 8.60	47.8 ± 9.69	0 ± 3.84	н/и
Хонгор-Уула	2.8 ± 1.94	12.5 ± 3.90	50.0 ± 5.89	5.6 ± 2.70	83.3 ± 8.33
Шабартайка	2.9 ± 2.02	24.6 ± 5.19	59.4 ± 5.91	8.7 ± 3.39	100.0 ± 4.00

В отношении зараженности исследуемыми патогенами клещей разных возрастных морфологических фаз оказалось, что в пулах нимф *I. persulcatus* А, Э и Б встречались чаще, чем во взрослых особях (25, 10 и 100%, соответственно), риккетсии – реже (45%), а РНК ВКЭ не была выявлена ни разу. В то же время статистически достоверны эти данные лишь для боррелий ( $t = 10.6$ ,  $df = 408$ ,  $P < 0.001$ ). В 16 пробах нимф из 20 исследованных (80%) присутствовало два и более патогена, при этом сочетание Б+Р имело место во всех случаях микст-инфицирования.

Из трех видов переносчиков, обследованных на наличие маркеров ВКЭ, А, Б, Р и Э, основная доля положительных находок пришлась на таежного клеща. В клещах *D. silvarum*, исследованных на ВКЭ, А, Б и Э, маркеры искомым патогенов не обнаружены. Генетический материал Р отмечен в шести из восьми ( $75.0 \pm 15.31\%$ ) суспензий *H. concinna*, Б – в четырех ( $50.0 \pm 17.68\%$ ) и А – в одной ( $12.5 \pm 11.69\%$ ). Маркеры ВКЭ и эрлийи не обнаружено. Микст-инфицирована половина проб *H. concinna* (А+Б – одна, Б+Р – три).

Из 22 суспензий питавшихся самок хотя бы один патоген был выявлен в 14 (63.6%), а два и более – в девяти (40.9%); все – *I. persulcatus*. ВКЭ не был детектирован ни в одной из них, Б – в 11 (50%), Р – в семи (31.8%), А – в шести (27.3%), Э – в трех (13.6%). Несмотря на видимые различия в доле положительных находок маркеров Р, А и Э по сравнению с голодными имаго, они статистически не достоверны, вероятно, из-за небольшой величины выборки. Варианты микст-инфицирования: Б+Р ( $n = 4$ ), А+Б ( $n = 2$ ), Б+Р+Э ( $n = 2$ ) и А+Б+Р+Э ( $n = 1$ ).

Исследование иксодовых клещей на спектр переносимых ими патогенов представляет интерес как по ареалу переносчиков в целом, так и для того или иного конкретного региона на предмет наличия в нем сочетанных природных очагов инфекций, экологически связанных с клещами. В более ранней работе (Мельникова и др., 2018) мы подробно обсудили данные литературных источников по вопросу выявления маркеров ВКЭ и бактериальных патогенов в переносчиках как на территории нашей страны, так и за ее границами. Там же показано, что в среднем на обследованной нами территории Прибайкалья (Иркутская область и Республика Бурятия) маркеры ВКЭ, А, Б, Р и Э обнаруживали, соответственно, в  $2.8 \pm 0.40$ ,  $10.5 \pm 0.73$ ,  $34.2 \pm 1.15$ ,  $71.2 \pm 2.76$  и  $5.0 \pm 0.52\%$  суспензий индивидуальных клещей. В Тункинском районе Республики Бурятия, согласно результатам данной работы, клещей с маркерами Б и Р выявлено существенно больше:  $47.1 \pm 2.45$  и  $92.6 \pm 2.37\%$ , соответственно ( $t = 4.76$ ,  $df = 2154$ ,  $P < 0.001$  для Б и  $t = 5.89$ ,  $df = 498$ ,  $P < 0.001$  для Р). Достаточно подробные сведения, касающиеся поиска и обнаружения в иксодовых клещах из Республики Бурятия всех, обсуждаемых в данной работе патогенов, можно найти в работах сотрудников Центра диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск, Россия) (Данчинова и др., 2015; Ляпунов и др., 2016). Авторы сообщают о находках маркеров ВКЭ в 4.3% исследованных проб, Б – в 10.8–21.7%, А и Э – в 17.4 и 13.0% проб, соответственно. Однако эти сведения касаются самок разной степени насыщенности, снятых с пострадавших людей. Вероятно, именно этим объясняется более высокая доля переносчиков с ВКЭ и более низкая – с Б, поскольку известно немало таких примеров (Мельникова и др., 1997; Сунцова, 2004; Романенко, Кондратьева, 2011; Фоменко и др., 2012; Belova et al., 2012). Другим объяснением может служить небольшая величина выборки ( $n = 23$ ), однако при сходной ее величине ( $n = 22$ ) в нашем исследовании, Б были детектированы в половине суспензий, А – в 27.3%, Э – в 13.6%.

Что касается членистоногих из природных очагов, Сунцова (2004) отмечала отсутствие достоверных различий между зараженностью Б клещей из Иркутской области и Бурятии; в частности, в Тункинской долине этим исследователем показана зараженность таежных клещей Б  $14.1 \pm 2.1\%$ . Необходимо отметить, что исследование проводилось другим методом. Ляпунов и др. (2016) констатируют, что подавляющую часть положительных проб выявляли из таежных клещей; зараженность степных клещей была ниже по всем изученным патогенам. Данчинова и др. (2006) не обнаружили возбудитель ИКБ ни в *D. nuttalli*, ни в *H. concinna*, собранных в Тункинском районе. В нашем исследовании половина клещей *H. concinna* содержала маркеры Б, а две трети клещей – Р. В той же публикации (Данчинова и др., 2006) показано, что около 95% клещей, собранных в Бурятии, содержали риккетсиоподобные организмы. Это сопоставимо с полученными в данном исследовании результатами – 92.6%.

В двух клещах, присосавшихся к людям на территории Тункинской долины, обнаружили два и три патогена одновременно (Б+Р, ВКЭ+А+Б) (Данчинова и др., 2015). Судя по результатам настоящего исследования, микст-инфицированные переносчики в обследованном районе встречаются гораздо чаще, а набор патогенных агентов в них бывает значительно разнообразнее.

Литературных источников, касающихся динамики зараженности клещей, зависимости находок маркеров клещевых патогенов от пола и морфологического возраста переносчиков, а также разницы в зараженности популяций клещей, населяющих разные участки Тункинской долины, нами не найдено.

Штаммовый пейзаж популяций ВКЭ на территории Республики Бурятия достаточно разнообразен: там циркулируют сибирский и дальневосточный субтипы вируса, а также вариант 886-84, до недавнего времени встречавшийся только в Прибайкалье и Монголии (Rag et al., 2017). В то же время все 10 штаммов из Тункинского района, упоминание о которых удалось найти (Экологические аспекты ..., 2012), отнесены к наиболее распространенному, сибирскому субтипу ВКЭ. К сожалению, более детальной информации об этих изолятах в доступных источниках нам не встречалось. Все 12 изолятов ВКЭ, полученных в процессе выполнения данной работы из природных объектов на территории Тункинской долины, генотипированы как сибирский субтип, группа Васильченко.

Определение видовой принадлежности боррелий из 18 суспензий таежного клеща показало циркуляцию в обследованных очагах обычных для евразийского ареала ИКБ и имеющих основное эпидемическое значение видов – *B. garinii* ( $n = 10$ ), *B. afzelii* ( $n = 5$ ), а также представителя группы клещевых возвратных лихорадок – *B. miyamotoi* ( $n = 3$ ). Публикаций, касающихся исследования видового состава боррелий из природных источников или клинического материала с территории Республики Бурятия, нами не обнаружено.

Таким образом, исследование искодовых клещей из Тункинского района Бурятии на маркеры пяти групп вероятных патогенов одновременно показало наличие сочетанных природных очагов клещевых инфекций. Доля выявленных маркеров составила: ВКЭ – 1.7%, Б – 47.1, А – 15.0, Р – 92.6, Э – 6.8%. Содержание патогенов в клещах варьировало по годам, месту сбора, виду, полу и возрастной морфологической фазе переносчиков. Максимум переносчиков с маркерами наиболее эпидемически значимых патогенов – ВКЭ и боррелий – выявляли в 2018 и 2019 гг., соответственно. Самыми опасными участками с точки зрения возможности заражения КЭ по результатам данного исследования оказались междуречье Б. и М. Зангисанов и левый берег р. М. Зангисан, местность Хонгор-Уула и долина р. Шабартайки. По содержанию боррелий в клещах с разных участков значимых различий не выявлено. Из трех видов искодид, попавших в сборы, чаще всего маркеры искомых патогенов встречались у *I. persulcatus*. В самцах клещей с обследуемой территории существенно реже встре-

чались генетические маркеры Э и Р. Маркеры двух и более патогенов одновременно встречались у 15.2% переносчиков при исследовании на четыре патогена и у 73.8% при исследовании на пять патогенов. Впервые определена видовая принадлежность боррелий и группы сибирского субтипа ВКЭ, циркулирующих на территории Тункинского района Республики Бурятия.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атутова Ж.В. 2013. Современные ландшафты юга Восточной Сибири. Новосибирск, Академическое изд-во «Гео», 125 с. [Atutova Zh.V. 2013. Modern Landscapes of the South of East Siberia. Novosibirsk, Academic Publishing House "Geo", 125 pp. (In Russian)]
- Веригина Е.В., Пакскина Н.Д. 2019. Об эпидемиологической ситуации в России по инфекциям, передающимся иксодовыми клещами, в 2009–2019 гг. Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии 37: 23–24. [Verigina E.V., Pakschina N.D. 2019. About epidemiological situation on tick-borne infections in Russia during the period 2009–2019. Dal'nevostochnyj Zhurnal Infekcionnoj Patologii 37: 23–24. (In Russian)]
- Вирусология. Методы. 1988. Пер. с англ. Под ред. Б. Мейхи. М., Мир, 344 с. (Virology. A practical approach. 1985. Ed. by B.W.J. Mahy. Oxford, Washington DC, IRL Press, 344 pp.).
- Воллер А., Бидуэлл Д., Бартлетт А. 1977. Иммуноферментативные реакции в диагностической медицине. Бюллетень ВОЗ 53 (1): 38–48. (Voller A., Bidwell D.E., Bartlett A. 1976. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. Bulletin of the World Health Organization 53 (1): 55–65).
- Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Злобин В.И. и др. 2006. Иксодовые клещи юга Восточной Сибири и Монголии и их спонтанная зараженность возбудителями природно-очаговых трансмиссивных инфекций. Бюллетень сибирской медицины. Приложение 1: 137–143. [Danchinova G.A., Khasnatinov M.A., Zlobin V.I. et al. 2006. Ixodid ticks of the South of Eastern Siberia and Mongolia, and their natural foci transmissible infections agents infection rates. Byulleten' sibirskoj meditsiny, Suppl. 1: 137–143. (In Russian)]
- Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. и др. 2012. Эколого-географическая характеристика обрацаемости людей, пострадавших от укусов клещей в Иркутской области и за ее пределами. Сибирский медицинский журнал 4: 64–67. [Danchinova G.A., Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A. et al. 2012. Ecological and geographical characteristics of treatment demand of individuals, suffered from ticks bite in Irkutsk region and elsewhere. Sibirskij meditsinskij zhurnal 4: 64–67. (In Russian)]
- Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. и др. 2015. Туризм и проблема «клещевых» инфекций в Республике Бурятия. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика 5 (84): 36–43. [Danchinova G.A., Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A. et al. 2015. The tourism and tick-borne infections problem in Republic of Buryatia. Epidemiology and Vaccinal Prevention 5 (84): 36–43. (In Russian)]
- Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В. 1981. Районирование ареала клещевого энцефалита. Итоги науки и техники: Медицинская география 11. М., ВИНТИ, 148 с. [Korenberg E.I., Kovalevskij Yu.V. 1981. Tick-borne encephalitis area zoning. Itogi nauki i tekhniki: Meditsinskaya geografiya 11. Moscow, VINITI, 148 pp. (In Russian)]
- Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. 2013. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М., 463 с. [Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. 2013. Infections with natural focality transmitted by Ixodid ticks. Moscow, 463 pp. (In Russian)]
- Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А., Манзарова Э.Л. и др. 2016. Применение метода ПЦР в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Acta Biomedica Scientifica 1 (6): 161–166. [Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A., Manzarova E.L. et al. 2016. Using real-time PCR for urgent detection and prophylaxis of tick-borne infections. Acta Biomedica Scientifica 1 (6): 161–166. (In Russian)] <https://doi.org/10.12737/23810>

- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. 1984. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М., Мир, 480 с. (Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. 1982. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. N.Y., Cold Spring Harbor, 545 pp.)
- Мельникова О.В., Ботвинкин А.Д., Данчинова Г.А. 1997. Сравнительные данные о зараженности вирусом клещевого энцефалита голодных и питавшихся таежных клещей (по результатам иммуноферментного анализа). *Медицинская паразитология* 1: 44–49. [Mel'nikova O.V., Botvinkin A.D., Danchinova G.A. 1997. Comparative data for tick-borne encephalitis virus infection rate of hungry and engorged taiga ticks (based on ELISA results). *Meditinskaya parazitologiya* 1: 44–49. (In Russian)]
- Мельникова О.В., Адельшин Р.В., Трушина Ю.Н. и др. 2018. Выявление спектра патогенов в иксодовых клещах из сочетанных природных очагов Прибайкалья. *Паразитология* 52 (6): 485–501. [Mel'nikova O.V., Adel'shin R.V., Trushina Yu.N. et al. 2018. Detection of spectrum of pathogens in ixodid ticks from combined natural foci of Baikal Region. *Parazitologiya* 52 (6): 485–501. (In Russian)] <https://doi.org/10.1134/S0031184718060066>
- Романенко В.Н., Кондратьева Л.М. 2011. Зараженность иксодовых клещей, снятых с людей, вирусом клещевого энцефалита, на территории города Томска и его окрестностей. *Паразитология* 45 (1): 3–10. [Romanenko V.N., Kondrat'eva L.M. 2011. Tick-borne encephalitis virus infection rate in ticks, removed from people on the Tomsk city territory and the suburbs. *Parazitologiya* 45 (1): 3–10. (In Russian)]
- Роспотребнадзор (Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека). 2020. О перечне эндемичных территорий по клещевому вирусному энцефалиту в 2019 г. Письмо от 31 января 2020 года N 02/1305-2020-32. Режим доступа: <https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/365/o-perechne-endemichnykh-terr-po-kve-v-2019-g.-31.01.2020.pdf> (25 августа 2021)
- Сильченко Е.В., Сымбелова Т.А., Анфиногорова Л.А., Дашеева Н.А. 2015. Современные проблемы клещевого энцефалита, взгляд практического врача. Анализ региональных эпидемиологических и клинических данных. *Журнал инфектологии* 7 (3, приложение): 79–80. [Sil'chenko E.V., Symbelova T.A., Anfinogenova L.A., Dasheeva N.A. 2015. Modern tick-borne-encephalitis problems, practicing physician view. Regional epidemiological and clinical data analysis. *Zhurnal Infektologii* 7 (3, suppl.): 79–80. (In Russian)]
- Сунцова О.В. 2004. Эколого-паразитологическая характеристика природных очагов клещевого боррелиоза в Прибайкалье. Дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 175 с. [Suntsova O.V. 2004. *Ekologo-parazitologicheskaya kharakteristika prirodnykh ochagov kleshchevogo borrelioza v Pribajkal'e*. Dis. ... kand. biol. nauk. Irkutsk, 175 pp. (In Russian)]
- Филиппова Н.А. 1977. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae (Фауна СССР. Паукообразные; IV (4)). Л., Наука, 396 с. [Filippova N.A. 1977. Ixodid ticks of subfamily Ixodinae (Fauna of USSR. Arachnoidea IV (4)). Leningrad, Nauka, 396 pp. (In Russian)]
- Филиппова Н.А. 1997. Иксодовые клещи подсем. Ambliomminiinae. (Фауна России и сопредельных стран. Паукообразные; IV (5)). СПб, Наука, 436 с. [Filippova N.A. 1997. Ixodid ticks of subfamily Ambliomminiinae. (Fauna of Russia and neighboring countries. Arachnoidea IV (5)). St. Petersburg, Nauka Publishing house, 436 pp. (In Russian)]
- Фоменко Н.В., Шперлинг М.М., Боргояков В.Ю. и др. 2012. Сравнительный анализ выявления ДНК боррелий и противоборрелиозных антител. *Сибирский медицинский журнал* 4: 61–64. [Fomenko N.V., Shperling M.M., Borgoyakov V.Yu. et al. 2012. The Borrelia DNA and anti-Borrelia antibodies comparative analysis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal* 4: 61–64. (In Russian)]
- Экологические аспекты краевой инфекционной патологии. 2012. (под ред. Е.Д. Савилова). Новосибирск, Наука, 232 с. [Ecological aspects of regional infectious pathology. 2012. (ed. E.D. Savilov). Novosibirsk, Nauka, 232 pp. (In Russian)]
- Adelshin R.V., Melnikova O.V., Karan L.S., et al. 2015. Complete genome sequences of four European subtype strains of tick-borne encephalitis virus from Eastern Siberia, Russia. *Genome Announcements* 3 (3): e00609-15.

- Belova O.A., Burenkova L.A., Karganova G.G. 2012. Different tick-borne encephalitis virus (TBEV) prevalences in unfed versus partially engorged ixodid ticks – evidence of virus replication and changes in tick behavior. *Ticks and Tick-borne Diseases* 3 (4): 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.05.005>
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.
- Rar V., Livanova N., Tkachev S., et al. 2017. Detection and genetic characterization of a wide range of infectious agents in *Ixodes pavlovskiyi* ticks in Western Siberia, Russia. *Parasites & Vectors* 10: 258. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2186-5>
- Roux V., Rydkina E., Eremeeva M., Raoult D. 1997. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and application for the Rickettsiae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 4: 252–261.
- Roux V., Raoult D. 2000. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1449–1455.

TICK-BORNE DISEASES:  
THE EPIZOOTOLOGICAL SURVEY OF TUNKINSKY DISTRICT,  
REPUBLIC OF BURYATIA

O. V. Mel'nikova, R. V. Adel'shin, M. G. Badmazhapov, A. N. Bondaryuk,  
K. V. Lopatovskaya, E. A. Sidorova, Yu. N. Trushina,  
N. V. Yakovchits, N. I. Ayugin, E. I. Andaev

**Keywords:** Republic of Buryatia, Tunka valley, Ixodid ticks, tick-borne encephalitis virus (TBEV), *Anaplasma* spp., *Borrelia* spp., *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp.

SUMMARY

Ixodid ticks, collected during three seasons (2017–2019) in different plots of the Tunkinsky district of Buryat Republic, were tested for the tick-borne diseases agents range. The genetic markers of tick-borne encephalitis virus (TBEV), *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Borrelia* spp. and *Rickettsia* spp. have been detected (in increasing order of magnitude). Two or more agents' markers in different combinations have been detected in 15.2–73.8% specimens depending on the set of pathogens tested. The existence of combined tick-borne infections natural foci has been shown. Differences have been detected in spatial, temporal, species, age and sex prevalence of the agents in ticks. The subtype of TBEV isolates and *Borrelia* species circulating have been identified.