

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.2.18

Видовое и генетическое разнообразие представителей семейства *Anaplasmataceae*, выявленное в зоне симпатрии клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*

Дорощенко Е.К.¹, Лисак О.В.¹, Рар В.А.², Сунцова О.В.¹, Савинова Ю.С.¹, Козлова И.В.¹¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия);² ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН (630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дорощенко Елена Константиновна, e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru

Резюме

Обоснование. На территории Эхирит-Булагатского района Иркутской области выявлены зоны симпатрии иксодовых клещей четырёх видов. В связи с этим научный интерес представляет исследование видового и генетического разнообразия представителей семейства *Anaplasmataceae* в зоне симпатрии ареалов иксодовых клещей близкородственных видов в сравнении с очагами с монодоминантным типом населения клещей.

Цель исследования: изучить видовое и генетическое разнообразие представителей семейства *Anaplasmataceae* в зонах симпатрии иксодовых клещей *Ixodes persulcatus*, *Dermacentor silvarum*, *D. nuttalli* и *Haemaphysalis concinna*, выявить основных переносчиков и потенциальных резервуарных хозяев эрлихий и анаплазм.

Методы. В ходе исследования было проанализировано 1106 экз. имаго иксодовых клещей и 49 образцов печени мелких млекопитающих. ДНК анаплазм и эрлихий выявляли методом двухраундовой ПЦР в присутствии родо- и видоспецифичных праймеров из области гена 16S рРНК. У части образцов определены нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК и фрагмента *groESL* оперона. Секвенирование осуществляли по методу Сэнгера. Сравнительный анализ проводили с использованием программы BLASTN и метода ClustalW. Эпидемиологический анализ данных осуществляли с использованием параметрических методов статистической обработки материала.

Результаты. ДНК *Ehrlichia muris* и *Anaplasma phagocytophilum* была обнаружена во всех исследованных видах клещей, обитающих в зоне симпатрии их ареалов. Однако процент инфицированности таёжных клещей был достоверно выше, чем клещей *H. concinna* и *Dermacentor* spp. К потенциальным резервуарным хозяевам представителей семейства *Anaplasmataceae* могут быть отнесены *Microtus oeconomus*, *M. gregalis*, *Myodes rutilus* и *Sorex* spp. При анализе нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК выявлено три генетических варианта анаплазм. Нуклеотидные последовательности *groESL* оперона *A. phagocytophilum* принадлежали к двум генетическим группам.

Ключевые слова: анаплазмы, эрлихии, иксодовые клещи, резервуарные хозяева, полимеразная цепная реакция

Для цитирования: Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Рар В.А., Сунцова О.В., Савинова Ю.С., Козлова И.В. Видовое и генетическое разнообразие представителей семейства *Anaplasmataceae*, выявленное в зоне симпатрии клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 129-137. doi: 10.29413/ABS.2019-4.2.18

Species and Genetic Diversity of Representatives of the *Anaplasmataceae* Family Found in the Sympatry Zone of the *Ixodes*, *Dermacentor* and *Haemaphysalis* Genera Ticks

Doroshchenko E.K.¹, Lisak O.V.¹, Rar V.A.², Suntsova O.V.¹, Savinova Yu.S.¹, Kozlova I.V.¹¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation);² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (pr. Academica Lavrentyeva 8, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

Corresponding author: Elena K. Doroshchenko, e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru

Abstract

Introduction. On the territory of the Ekhirit-Bulagatsky district of the Irkutsk region zones of sympatry of four *Ixodes* ticks species are found, where the species and genetic diversity of infectious agents transmitted through tick bites may be more pronounced than in foci with a mono-dominant type of ticks' population. In this connection, the study of the

species and genetic diversity of representatives of the Anaplasmataceae family in the sympatry zone of the Ixodes ticks of closely related species was of scientific interest.

Objective: To study the species and genetic diversity of members of the Anaplasmataceae family in the zones of sympatry of Ixodes ticks *Ixodes persulcatus*, *Dermacentor silvarum*, *D. nuttalli* and *Haemaphysalis concinna*, to identify the main carriers and potential reservoir hosts of ehrlichia and anaplasma.

Methods. In the course of the study, 1106 specimens of adult ticks and 49 samples of small mammalian livers from the Ekhirit-Bulagatsky area were analyzed. Anaplasma and ehrlichia DNA were detected by two-round PCR in the presence of genus- and species-specific primers from the 16S rRNA gene region. The nucleotide sequences of the 16S rRNA gene and the fragment of the groESL operon were identified in some samples. Sequencing was carried out according to the Sanger method. Comparative analysis was performed using the BLASTN program and ClustalW method.

Epidemiological data analysis was performed using parametric methods of statistical processing of the material.

Results. The DNA of *Ehrlichia muris* and *Anaplasma phagocytophilum* were detected in all studied species of ticks in their sympatry area. However, the rate of infection of taiga ticks was significantly higher than that of *H. concinna* and *Dermacentor* spp. Potential reservoir hosts of the Anaplasmataceae family members can be classified as *Microtus oeconomus*, *M. gregalis*, *Myodes rutilus* and *Sorex* spp. When analyzing the nucleotide sequences of the 16S rRNA gene, three genetic variants of anaplasma were detected. The nucleotide sequences of the *A. phagocytophilum* groESL operon belonged to two genetic groups.

Key words: anaplasma, Ehrlichia, ixodic ticks, reservoir hosts, polymerase chain reaction

For citation: Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Rar V.A., Suntsova O.V., Savinova Yu.S., Kozlova I.V. Species and Genetic Diversity of Representatives of the Anaplasmataceae Family Found in the Sympatry Zone of the Ixodes, Dermacentor and Haemaphysalis Genera Ticks. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 129-137. doi: 10.29413/ABS.2019-4.2.18

ВВЕДЕНИЕ

Иркутская область является территорией эндемичной по целому ряду инфекций, как вирусной, так и бактериальной этиологии, передающихся через укус клеща. Основным вектором для большинства клещевых патогенов является таёжный клещ *Ixodes persulcatus*. Однако в передаче возбудителей болезней человека и животных участвуют, в той или иной степени, и другие иксодовые клещи, ареалы которых пересекаются с ареалом таёжного клеща, формируя зоны симпатрии иксодовых клещей близкородственных видов.

Симпатрические отношения создают предпосылки для попеременного попадания вида (геновида, штамма) возбудителя в организм двух (или более) видов клещей, близкое родство которых даёт возможность возбудителю выживать и развиваться. При этом воздействие даже самой ограниченной степени контакта симпатрических видов-переносчиков на интенсивность обмена таксоном возбудителя может быть умножено в силу значительного диапазона вариантов горизонтальной и вертикальной циркуляции патогена на протяжении многих симпатрических поколений переносчиков [1]. Таким образом, в природных очагах одной и той же инфекции среда для возбудителя может быть неодинаковой в областях раздельного и совместного обитания близких видов-переносчиков.

Выбор Эхирит-Булагатского района в качестве модельной территории для изучения феномена симпатрии и его возможного влияния на видовое и генетическое разнообразие представителей семейства Anaplasmataceae не случаен. Он обусловлен наличием здесь всех основных типов ландшафтов (от таёжного до степного) и, в соответствии с этим, разнообразием обитающей здесь флоры и фауны. На территории Эхирит-Булагатского района встречаются клещи четырёх видов – *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930), *Dermacentor nuttalli* (Olenev, 1929), *D. silvarum* (Olenev, 1932) и *Haemaphysalis concinna* (Koch, 1844), а фауна, представлена наличием биоценологических группировок, свойственных таёжному, подтаёжному, лесостепному и степному ландшафтам.

В 2006 г. было доказано, что на территории этого района существуют природные очаги гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза

человека (МЭЧ) с циркуляцией в них *Ehrlichia muris* и *Anaplasma phagocytophilum* [2, 3].

Роль мелких млекопитающих в качестве резервуарных хозяев эрлихий и анаплазм в ареале таёжного клеща на территории России показана на примере Свердловской, Новосибирской областей и Хабаровского края [4, 5, 6]. ДНК *A. phagocytophilum*, *E. muris* и «*Candidatus N. mikurensis*» была обнаружена в образцах от мелких млекопитающих на территории данных регионов. Возбудители ГАЧ и МЭЧ выявлены в образцах от полёвок рода *Myodes* и *Microtus*, обыкновенных бурозубок (*Sorex araneus*), восточно-азиатских мышей (*Apodemus peninsulae*) и бурундуков (*Tamias sibiricus*) [4, 5, 6]. В Иркутской области исследования по выявлению бактерий семейства Anaplasmataceae в организме теплокровных животных до недавнего времени не проводились.

ЦЕЛЬ ДАННОЙ РАБОТЫ

Изучить видовое и генетическое разнообразие представителей семейства Anaplasmataceae в зонах симпатрии иксодовых клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, выявить основных переносчиков и потенциальных резервуарных хозяев эрлихий и анаплазм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе исследования было проанализировано 1106 экз. имаго иксодовых клещей, отловленных с растительности на флаг в лесных, лесостепных и степных биотопах Эхирит-Булагатского района, из которых 522 экз. были представлены клещами *I. persulcatus*, 408 – *H. concinna* и 176 – клещами рода *Dermacentor* spp. В качестве района сравнения был взят Иркутский район Иркутской области, характеризующийся абсолютным доминированием клещей *I. persulcatus*. Проанализировано 1398 экз. имаго таёжных клещей, собранных с растительности на флаг на территории данного района.

Кроме того, были исследованы 49 образцов печени мелких млекопитающих, являющихся прокормителями иксодовых клещей на территории Эхирит-Булагатского района. Зверьки были пойманы с использованием стандартных зоологических методов.

Суммарные нуклеиновые кислоты экстрагировали из клещей и образцов тканей животных с помощью

Таблица 1
 Праймеры, используемые при проведении двухраундовой ПЦР, для обнаружения и видовой идентификации эрлихий и анаплазм
 Table 1
 Primers used in the two-round PCR for the detection and species identification of Ehrlichia and Anaplasma

Ген	Нуклеотидные последовательности праймеров (5' → 3')	Температура отжига	Ссылки на авторов
Ген 16SpPHK <i>Anaplasmataceae</i>	Ehr1 (gaacgaacgctggcggcaagc) Ehr2(agta(t/c)cg(a/g)accagatagccgc)	57 °C	[5]
	Ehr3 (tgcataggaatctacctaagtag) Ehr4 (ctaggaattccgctatcctct)	59 °C	[5]
	Ehr1 (gaacgaacgctggcggcaagc) Ehr6 (gacccaacctaaatggctgc)	63 °C	[5, 8]
	Ehr7 (taacacatgcaagtcgaacg) Ehr8 (cttcgagttaagccaattcc)	60 °C	[5, 8]
Ген 16S pPHK <i>A. phagocytophilum</i>	HGE1 (cggattattctttagcttgc) HGE2 (cttaccgaaccgctacatg)	55 °C	[5]
Ген 16S pPHK <i>E. muris</i>	Em1 (cgaacgtagatctaccatagc) Em2 (cgctccaaagtaagctttggt)	55 °C	[5]
<i>groESL</i> оперон <i>Anaplasmataceae</i>	HS1-f (cgycagtgggctgtaagtaa) HS6-r (ccwccwggtagwacaccttc)	55 °C	[8, 9]
	HS6-f (atagtyatgaaggagagtgat) HSVR (tcaacacgagctctagtwg)	50 °C	[10]

комплекта реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) по инструкции производителя.

ДНК анаплазм и эрлихий выявляли методом двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в присутствии прямых и обратных родоспецифичных праймеров (табл. 1) из области гена 16S pPHK [5, 7], используя лабораторные наборы производства ЗАО «БИОСАН» (г. Новосибирск). При положительном результате длина ПЦР-продукта составляла 524 н.п.

Видовую принадлежность эрлихий и анаплазм устанавливали на втором этапе с использованием праймеров, специфичных для *A. phagocytophilum* и *E. muris* (табл. 1) [5, 8].

В результате проведения второго раунда ПЦР получали специфические фрагменты длиной 494 н.п. для *A. phagocytophilum* и 539 н.п. для *E. muris*, которые выявляли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия с последующим облучением ультрафиолетом на трансиллюминаторе.

Для амплификации нуклеотидной последовательности гена 16S pPHK использованы праймеры Ehr1, Ehr6, Ehr7 и Ehr8 [5, 8], для амплификации фрагмента *groESL*-оперона – праймеры HS1-f, HS6-r, HS6-f и HSVR [8, 9, 10] (табл. 1).

Полученные ампликоны очищали с помощью GFX колонок («Amersham Biosciences», USA). Для идентификации возбудителей ГАЧ и МЭЧ проводили определение нуклеотидных последовательностей полиморфных участков их генома. Секвенирование осуществляли по методу Сэнгера на автоматическом секвенаторе «ABIPrism 3100 DNAAnalyser» («AppliedBiosystems», USA) в Центре секвенирования ДНК СО РАМН, г. Новосибирск. Сравнение расшифрованных нуклеотидных последовательностей с ранее опубликованными в GenBank проводили с использованием программы BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), полученные последовательности анализировали методом ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/index.html>).

Эпидемиологический анализ данных осуществляли с использованием параметрических методов статистиче-

ской обработки материала с вычислением стандартной ошибки и критерия Стьюдента [11].

Соблюдение этических норм. Животные для исследования были отловлены с применением живоловок. Перед изъятием органов животные были подвергнуты эвтаназии с использованием хлороформа. Исследования выполнены в соответствии с законодательством РФ, положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (ETS № 123), в частности приложения А и статьи № 5 Конвенции, положениями Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Washington D.S., 2011) и другими нормами международного права, регламентирующими вопросы содержания и использования лабораторных (экспериментальных) животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования на наличие ДНК представителей семейства *Anaplasmataceae* было исследовано 1106 экз. иксодовых клещей, собранных на территории Эхирит-Булагатского района. Результаты исследования представлены в таблице 2. Из иксодовых клещей в общей сложности было выявлено 100 образцов ДНК бактерий семейства *Anaplasmataceae*: 48 изолятов ДНК *E. muris*, 30 – *A. phagocytophilum*, в 19 образцах присутствовала одновременно ДНК *E. muris* и *A. phagocytophilum*.

Инфицированность клещей *I. persulcatus* *E. muris*, *A. phagocytophilum* и одновременно двумя этими патогенами составила 7,1 %, 3,3 % и 2,7 % соответственно. Процент зараженности клещей *H. concinna* был значительно ниже. В клещах *Dermacentor* spp. ДНК *E. muris* детектирована в 2,0 % случаев, ДНК *A. phagocytophilum* – в 1,7 % случаев. Микст-инфицирование клещей этого вида одновременно двумя патогенами в ходе нашего исследования не выявлено.

Было показано, что различия в уровне инфицированности разных видов иксодовых клещей в Эхирит-Булагатском районе статистически значимы. Для выборок клещей *I. persulcatus* и *H. concinna* критерий Стьюдента

составил $t = 4,6$, при сравнении инфицированности клещей *I. persulcatus* и *Dermacentor* spp. $t = 3,7$ (при $K > 500$: $t_{крит.} = 1,96$ при $p < 0,05$; $t_{крит.} = 2,58$ при $p < 0,01$). В то время как между клещами *H. concinna* и *Dermacentor* spp. статистически значимой разницы в уровне инфицированности эрлихиями и анаплазмами не обнаружено $t = 1,0$ ($K > 500$, $p < 0,05$, $t_{крит.} = 1,96$).

Параллельно с исследованиями в Эхирит-Булагатском районе нами проведено изучение инфицированности клещей бактериями семейства *Anaplasmataceae* в Иркутском районе Иркутской области (табл. 3). Это район характеризуется монодоминантным типом населения иксодовых клещей, с абсолютным преобладанием клеща *I. persulcatus*.

Сравнительный анализ инфицированности таёжных клещей из Эхирит-Булагатского и Иркутского районов Иркутской области показал, что доля клещей, инфицированных эрлихиями и анаплазмами, почти вдвое выше в зоне симпатрии иксодовых клещей, чем в зоне с монодоминантным обитанием этого вида клещей.

Нами отмечено, что инфицированность представителями семейства *Anaplasmataceae* является более высокой

у *I. persulcatus*, чем других иксодид. По всей видимости, именно этот вид клещей является основным переносчиком эрлихий и анаплазм, как в зоне симпатрии иксодовых клещей, так и на территории с монодоминантным типом населения клещей.

Для выявления ДНК бактерий семейства *Anaplasmataceae* в организме теплокровных животных, являющихся прокормителями иксодовых клещей и, следовательно, потенциальными резервуарными хозяевами возбудителей МЭЧ и ГАЧ в природных очагах, нами было проанализировано 49 образцов печени мелких млекопитающих, отловленных в лесостепных и степных биотопах Эхирит-Булагатского района.

Видовой состав животных и результаты исследования приведены в таблице 4. Полученные нами результаты согласуются с данными, полученными ранее при исследовании мелких млекопитающих в других регионах [5, 6].

С учётом данных, в том числе по микстинфицированным животным, к числу потенциальных резервуарных хозяев моноцитарных эрлихий на территории Эхирит-Булагатского района, могут быть отнесены: полёвка-эко-

Таблица 2
Результаты исследования методом ПЦР иксодовых клещей, собранных в Эхирит-Булагатском районе

The results of a PCR study of Ixodic ticks collected in the Ekhirit-Bulagatsky district

Table 2

Вид клеща	Исследовано клещей	Всего положительных образцов	Обнаруженные виды бактерий		
			<i>E. muris</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>E. muris/ A. phagocytophilum</i>
<i>I. persulcatus</i>	522	71 (13,6 ± 1,5 %)	37 (7,1 ± 1,1 %)	17 (3,3 ± 0,8 %)	14 (2,7 ± 0,7 %)
<i>Dermacentor</i> spp.	176	9 (5,1 ± 1,7 %)	3 (1,7 ± 1,0 %)	6 (3,4 ± 1,4 %)	–
<i>H. concinna</i>	408	20 (4,9 ± 1,1 %)	8 (2,0 ± 0,7 %)	7 (1,7 ± 0,6 %)	5 (1,2 ± 0,5 %)
Всего	1106	100 (9 ± 0,9 %)	48 (4,3 ± 0,6 %)	30 (2,7 ± 0,5 %)	19 (1,7 ± 0,4 %)

Примечание. * – в 3 образцах бактерии семейства *Anaplasmataceae* не определены до вида.

Таблица 3
Результаты исследования методом ПЦР клещей *I. persulcatus*, собранных в Иркутском районе Иркутской области

The results of the PCR study of *I. persulcatus* ticks collected in the Irkutsk region of the Irkutsk Oblast

Table 3

Вид клеща	Исследовано клещей	Всего положительных образцов	Обнаруженные виды бактерий		
			<i>E. muris</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>E. muris/ A. phagocytophilum</i>
<i>I. persulcatus</i>	1398	104 (7,4 ± 0,7 %)	49 (3,5 ± 0,5 %)	42 (3,0 ± 0,5 %)	13 (0,9 ± 0,3 %)

Таблица 4
Результаты исследования грызунов, отловленных на территории Эхирит-Булагатского района, на присутствие ДНК *E. muris* и *A. phagocytophilum*

The results of a study of rodents caught in the territory of the Ekhirit-Bulagatsky district for the presence of *E. muris* and *A. phagocytophilum* DNA

Table 4

№	Вид животного	Количество исследованных особей	Число образцов, в которых обнаружена ДНК		
			<i>E. muris</i>	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>E. muris + A. phagocytophilum</i>
1	Полёвка-экономка (<i>Microtus oeconomus</i>)	17	–	2*	2
2	Узкочерепная полёвка (<i>Microtus gregalis</i>)	4	1	–	–
3	Бурозубка (<i>Sorex</i> spp.)	21	2	–	–
4	Красная полёвка (<i>Myodes rutilus</i>)	5	–	2*	1
5	Красно-серая полёвка (<i>Myodes rufocanus</i>)	1	–	–	–
6	Серая крыса (<i>Rattus norvegicus</i>)	1	–	–	–
	Всего (абс.%)	49	3 (6,1%)	4 (8,2%)	3 (6,1%)

Примечание. * – в одном из образцов одновременно обнаружена РНК вируса клещевого энцефалита.

номка (*M. oeconomus*), узкочерепная полёвка (*M. gregalis*), красная полёвка (*M. rutilus*) и бурозубки (*Sorex spp.*). Возможными резервуарными хозяевами *A. phagocytophilum* являются *M. oeconomus* и *M. rutilus*.

ДНК «*Candidatus N. mikurensis*» при исследовании клещей и грызунов в Эхирит-Булагатском районе не обнаружена, что вероятнее всего обусловлено небольшим объёмом выборки, так как, как правило, инфицированность иксодовых клещей этой бактерией не превышает 1 % [8]. На территории Иркутского района ДНК «*Candidatus N. mikurensis*» была выявлена в клещах *I. persulcatus*.

Ранее были определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S рРНК *E. muris* длиной 1299 н.о. для образцов от клещей и мелких млекопитающих, отловленных на территории различных областей России [9, 12, 13]. Все они были идентичны друг другу и нуклеотидной последовательности *E. muris* (GenBank AB196302), выявленной у грызунов в Японии [14, 15], и отличались двумя нуклеотидными заменами от последовательности *E. muris* (GenBank AB013009), которая была впервые генотипирована в Японии в 1999 г. в клещах и грызунах [15]. Типичным образцом *E. muris* на территории азиатской части России является образец Nov-Ip 205, нуклеотидные последовательности которого занесены в базу данных GenBank под номерами GU358686 (*groESL* оперон) и GU358691 (ген 16S рРНК). Было установлено, что последовательности фрагмента гена 16S рРНК *E. muris* являются высоко консервативными.

У образца Irk-Hc313, полученного от клеща *H. concinna* из Эхирит-Булагатского района, была определена нуклеотидная последовательность *groESL* оперона длиной

1315 н.о. Она оказалась идентичной последовательностям *groESL* оперона образцов *E. muris*, выявленных ранее в клещах *I. persulcatus* в Новосибирской области (GU358686), Хабаровском крае (GU358689) и Иркутской области (Irk-Ip615, Irk-Ip635), и отличалась двумя заменами от последовательности *groESL* оперона из клещей в Японии (AF210459) [16, 17].

В ходе выполнения исследования нами определены нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК и *groESL* оперона *A. phagocytophilum* у 5 образцов от клещей *I. persulcatus*, собранных в Эхирит-Булагатском районе (табл. 5).

Нуклеотидные последовательности *groESL* оперона и гена 16S рРНК образцов Irk-Ip2, Irk-Ip2620, Irk-Ip137 были идентичны последовательностям образца из Новосибирска Nov-Ip456. Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК образца Irk-Ip645 была идентична последовательности Irk-Ip820 из Иркутского района (табл. 5).

Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК и *groESL* оперона образца Irk-Ip662 зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами HM366572 (*groESL* оперон) и HM366584 (16S рРНК). Генетические варианты последовательностей этого образца обнаружены только Эхирит-Булагатском районе Иркутской области, в других регионах Сибири и Дальнего Востока подобные нуклеотидные последовательности *A. phagocytophilum* не обнаружены.

По результатам секвенирования гена 16S рРНК образцов из Эхирит-Булагатского района выявлено три генетических варианта *A. phagocytophilum* – 1, 4, 5 (табл. 5).

Генетический вариант 1 (образцы Irk-Ip-2, Irk-Ip2620). Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК

Таблица 5
Генетические варианты *A. phagocytophilum*, выявленные на территории Эхирит-Булагатского и Иркутского районов

Detection of various variants of *A. phagocytophilum* in the territory of Ekhirit-Bulagatsky and Irkutsk districts

Образец	<i>groESL</i> оперон		16S рРНК	
	Генетический вариант	Идентичная последовательность в базе данных GenBank	Генетический вариант	Идентичная последовательность в базе данных GenBank
Эхирит-Булагатский район				
Irk-Ip2	I	HM366570	1	HM366582
Irk-Ip2620	I	HM366570	1	HM366582
Irk-Ip137	I	HM366570	—*	—
Irk-Ip645	—*	—	4	HM366586
Irk-Ip662	III-h	HM366572	5	HM366584
Иркутский район				
Irk-Ip853	I	HM366570	1	HM366582
Irk-Ip687	I	HM366570	1	HM366582
Irk-Ip625	I	HM366571	2	HM366583
Irk-Ip706	I	HM366571	2	HM366583
Irk-Ip10	III-a	HM366575	4	HM366587
Irk-Ip776	III-b	HM366573	4	HM366585
Irk-Ip50	III-b	HM366573	4	HM366585
Irk-Ip820	III-c	HM366574	4	HM366586
Irk-Ip398	III-c	HM366574	—*	—
Irk-Ip434	III-c	HM366574	—*	—

Примечание. * – нуклеотидная последовательность не определена.

соответствует последовательности, доступной в базе данных GenBank (AF093788), ранее выявленной в крови больных людей [18].

Генетический вариант 4 (Irk-lp-645) отличается одной нуклеотидной заменой в консервативной области гена 16S рРНК от последовательности редкого генетического варианта *A. phagocytophilum* (GenBank DQ342324), выявленного ранее только на территории Китая в *I. persulcatus* и мелких млекопитающих [19, 20], и тремя нуклеотидными заменами в варибельной области гена 16S рРНК от соответствующей последовательности генетического варианта 1.

Генетический вариант 5 (Irk-lp662) отличается от варианта 4 одной нуклеотидной заменой в консервативной области гена.

Генетические варианты 2, 3 и 6, ранее описанные в других регионах России [7, 12], в Эхирит-Булагатском районе не обнаружены. В Иркутском районе, кроме выявленных в Эхирит-Булагатском районе вариантов гена 16S рРНК, встречается также генетический вариант 2 *A. phagocytophilum*, но в то же время отсутствует вариант 5 (табл. 5).

Последовательности *groESL* оперона *A. phagocytophilum* отличаются более высоким разнообразием по сравнению с последовательностями гена 16S рРНК. В России было выявлено десять вариантов последователь-

ностей *groESL* оперона, которые могут быть отнесены к трём различным группам (I, II, III) и отличаются по тропизму к позвоночным хозяевам [21, 22].

Гомология нуклеотидных последовательностей *groESL* оперона между разными группами составляет 94,8–94,9 %, внутри групп варьирует от 99,7 до 100 % [8, 21, 22]. Было показано, что на филогенетическом древе нуклеотидные последовательности групп I и II – образцы из России вместе с аналогичными последовательностями образца, выделенного от полёвки из Швейцарии (AF192796), – формируют отдельный достаточно гомогенный кластер. В то время как генетическая группа III была крайне гетерогенна и содержала восемь вариантов нуклеотидных последовательностей, обозначенных IIIa–IIIh (рис. 1). Все они вошли в кластер, сформированный нуклеотидными последовательностями образцов *A. phagocytophilum* от клещей и бурундуков. Эти последовательности различаются между собой 1–4 нуклеотидными заменами [21, 22].

Образцы ДНК *A. phagocytophilum* из Эхирит-Булагатского района по результатам анализа нуклеотидных последовательностей *groESL* оперона были отнесены к I и III группам (табл. 5). К этим же группам отнесены все обнаруженные к настоящему времени в Иркутской области образцы нуклеотидных последовательностей *groESL* оперона *A. phagocytophilum*. Однако спектр генетических

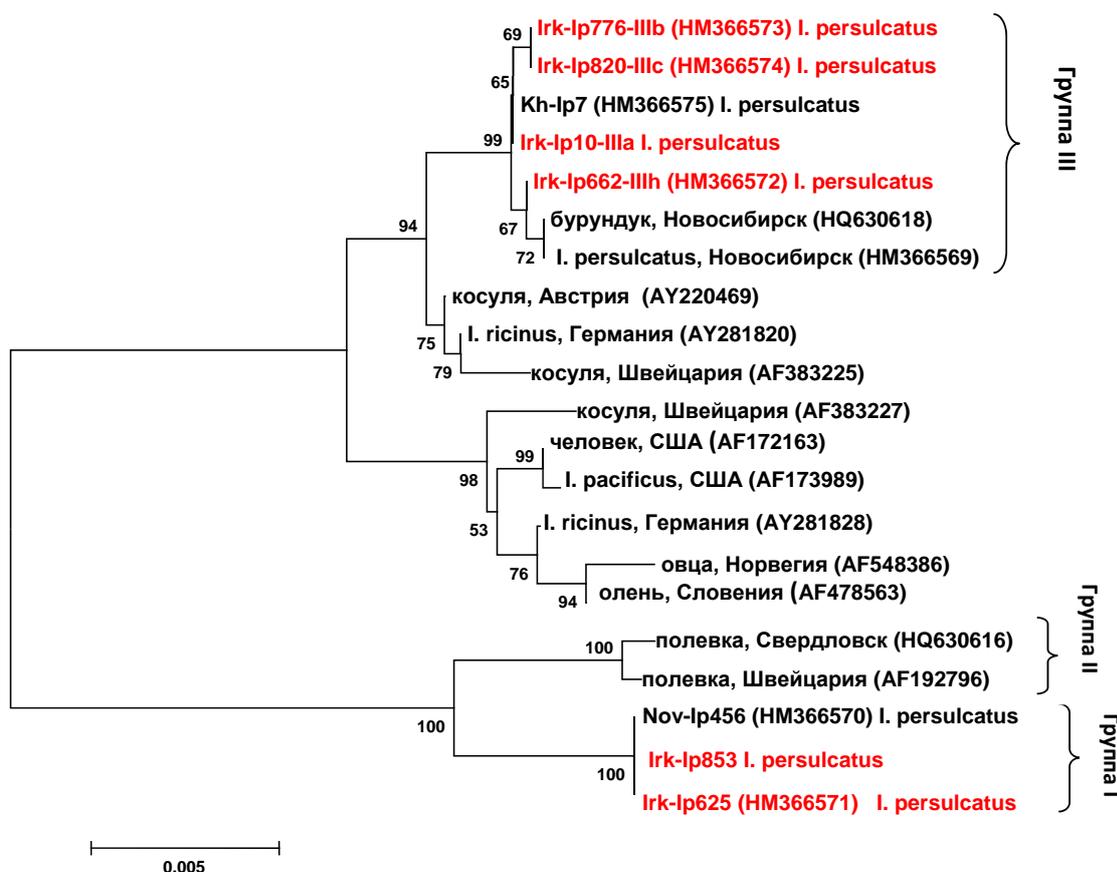


Рис. 1. Дендрограмма сходства нуклеотидных последовательностей фрагмента *groESL* оперона *A. phagocytophilum* (1245 н.о.), построенная с использованием метода NJ. Шкала представляет 0,5 % дивергенции. Красным цветом выделены последовательности из Иркутской области.

Fig. 1. Dendrogram of nucleotide sequence similarity of the *groESL* operon fragment of *A. phagocytophilum* (1245 nb), constructed using the NJ method. The scale represents 0.5 % divergence. Sequences from the Irkutsk Region are highlighted in red.

вариантов нуклеотидных последовательностей, отнесённых к III группе, в Иркутском районе Иркутской области отличался от варианта в зоне симпатрии клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor* и *Haemaphysalis* в Эхирит-Булагатском районе.

Сравнение генетических вариантов *A. phagocytophilum*, циркулирующих в областях симпатрии *I. persulcatus*/*I. trianguliceps* на территории Западной Сибири и *I. ricinus*/*I. trianguliceps* на территории Европы, позволило выявить генетическую линию анаплазм, характерную только для *I. trianguliceps* [22, 23].

В нашем исследовании выявить генетический вариант, ассоциированный с каким-либо определённым видом клещей, не удалось, т.к. изучалась только генетическая вариабельность образцов *A. phagocytophilum* от клещей *I. persulcatus* в областях раздельного и совместного обитания близких видов-переносчиков. Исследования в этом направлении будут продолжены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено широкое распространение на территории Эхирит-Булагатского района Иркутской области очагов МЭЧ и ГАЧ с циркуляцией в них *E. muris* и *A. phagocytophilum*. ДНК этих возбудителей была обнаружена как в иксодовых клещах, так и в образцах печени от мелких млекопитающих.

Основным переносчиком бактерий семейства *Anaplasmataceae* в зоне симпатрии иксодовых клещей на территории Эхирит-Булагатского района являются таёжный клещ *I. persulcatus*. Клещи *H. concinna* и *Dermacentor* spp. выполняют роль дополнительных переносчиков. Установлено, что к числу потенциальных резервуарных хозяев представителей семейства *Anaplasmataceae* на территории Эхирит-Булагатского района, могут быть отнесены: полёвка-экономка (*M. oeconomus*), узкочерепная полёвка (*M. gregalis*), красная полёвка (*M. rutilus*) и бурозубки (*Sorex* spp.).

Показано, что нуклеотидная последовательность *groESL* оперона от клеща *H. concinna* из Эхирит-Булагатского района идентична последовательностям *groESL* оперона образцов *E. muris*, выявленных ранее в клещах *I. persulcatus* в Новосибирской области, Хабаровском крае и Иркутской области (Irk-Ip 615, Irk-Ip 635) и отличается только двумя заменами от последовательности *groESL* оперона из клещей в Японии. Учитывая полученные ранее результаты и данные литературы, можно заключить, что нуклеотидные последовательности *E. muris* являются высоко консервативными и не зависят от вида клеща.

Проведён сравнительный анализ генетической вариабельности *A. phagocytophilum* в зоне симпатрии клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor* и *Haemaphysalis* и в районе с монодоминантным типом населения иксодовых клещей. Показано, что по результатам секвенирования гена 16S рРНК образцов из Эхирит-Булагатского района выявлено три генетических варианта *A. phagocytophilum* – 1, 4, 5, а в Иркутском районе – 1, 2 и 4.

В ходе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей *groESL* оперона на территории двух районов было установлено, что образцы из обоих районов относятся к генетическим группам I и III. Однако спектр генетических вариантов, отнесённых к группе III по *groESL* оперону, в Эхирит-Булагатском районе в зоне симпатрии клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor* и *Haemaphysalis* и в Иркутском районе Иркутской области отличался.

Финансирование

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01336_а.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филиппова Н.А. Симпатрия близкородственных видов иксодовых клещей и её возможная роль в паразитарных системах природных очагов трансмиссивных болезней. *Паразитология*. 1999; 33(3): 223-241.
2. Козлова И.В., Злобин В.И., Верхозина М.М., Рар В.А., Лисак О.В., Дорощенко Е.К., и др. Результаты рекогносцировочных исследований по моноцитарному эрлихиозу и гранулоцитарному анаплазмозу человека в Прибайкалье. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 3(55): 112-116.
3. Козлова И.В., Верхозина М.М., Дёмина Т.В., Джиоев Ю.П., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., и др. Сочетанные очаги трансмиссивных клещевых инфекций на территории Прибайкалья. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 4(53): 40-46.
4. Ливанова Н.Н., Рар В.А., Ливанов С.Г., Иголкина Я.П. Разнообразие паразитарных систем с участием мелких млекопитающих и *Ixodes persulcatus* Shulze на Северном Урале. *Сибирский экологический журнал*. 2005; (6): 1079-1084.
5. Рар В.А., Пуховская Н.М., Высочина Н.П., Зайнулина З.У., Гуляко Л.Ф., Иванов Л.И. Распространение и генетическое разнообразие эрлихий и анаплазм в таежных клещах и мелких млекопитающих на территории Хабаровского края. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 3 (Приложение): 156-159.
6. Rar VA, Livanova NN, Panov VV, Kozlova IV, Pukhovskaya NM, Vysochina NP, et al. Prevalence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in *Ixodes persulcatus* ticks and small mammals from different regions of Asian part of Russia. *Int J Med Microbiol*. 2008; 298(1): 222-230. doi: 10.1016/j.ijmm.2008.01.001
7. Rar VA, Fomenko NV, Dobrotvorsky AK, Livanova NN, Rudakova SA, Fedorov EG, et al. Tick-borne pathogen detection, Western Siberia, Russia. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11: 1708-1715.
8. Rar VA, Epikhina TI, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, et al. The study of heterogeneity of 16S rRNA gene and *groESL* operone in DNA samples of *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia muris*, and "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" determined in *Ixodes persulcatus* ticks on the territory of Ural, Siberia and Far East of Russia. *Mol Gen Microbiol Virol*. 2011; 26(2): 66-73. doi: 10.3103/S0891416811020091
9. Sumner JW, Nicholson WL, Massung RF. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the *groESL* heat shock operon of *Ehrlichia* species. *J Clin Microbiol*. 1997; 35(8): 2087-2092.
10. Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, et al. PCR detection of granulocytic ehrlichia in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(3): 1002-1007.
11. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. *Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала*. Новосибирск: Наука-Центр; 2011.
12. Rar VA, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, Vysochina NP, et al. Genetic diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia* in Asian part of Russia. *Ticks Tick-Borne Dis*. 2010; 1(1): 57-65. doi: 10.1016/j.ttbdis.2010.01.002
13. Rar VA, Epikhina TI, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, et al. Genetic variability of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes persulcatus* ticks and small mammals in the Asian part of Russia. *Vector-Borne Zoonot Dis*. 2011; 11(8): 1013-1021. doi: 10.1089/vbz.2010.0266
14. Kawahara M, Suto C, Rikihisa Y, Yamamoto S, Tsuboi Y. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse. *J Clin Microbiol*. 1993; (31): 89-96.
15. Wen B, Rikihisa Y, Mott J, Fuerst PA, Kawahara M, Suto C. *Ehrlichia muris* sp. nov., identified on the basis of 16S rRNA

base sequences and serological, morphological and biological characteristics. *Int J Syst Bacteriol.* 1995; (45): 250-254. doi: 10.1099/00207713-45-2-250

16. Kawahara M, Ito T, Suto C, Shibata S, Rikihisa Y, Hata K, et al. Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic evidence of humans and animals with *E. muris* as antigen. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(4): 1123-1129.

17. Sumner JW, Storch GA, Buller RS, Liddell AM, Stockham SL, Rikihisa Y, et al. PCR amplification and phylogenetic analysis of groESL operon sequences from Ehrlichia ewingii and Ehrlichia muris. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(7): 2746-2749.

18. Von Loewenich FD, Stumpf G, Baumgarten BU, Rollinghoff M, Dumler JS, Bogdan C. A case of equine granulocytic ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* (HGE agent) in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003; 22(5): 303-305. doi: 10.1007/s10096-003-0935-1

19. Cao WC, Zhan L, He J, Foley J, De Vlas SJ, Wu XM, Yang H, Richardus JH, Habbema JD. Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin Province, China. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75(4): 664-668.

20. Cao WC, Zhao QM, Zhang PH, Dumler JS, Zhang XT, Fang LQ, et al. Granulocytic ehrlichia in *Ixodes persulcatus* ticks from an area in China where Lyme disease is endemic. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(11): 4208-4210.

21. Rar VA, Golovljova I. Anaplasma, Ehrlichia, and "Candidatus Neoehrlichia" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infect Genet Evol.* 2011; 11(8): 1842-1861. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.019

22. Rar VA, Epikhina TI, Tikunova NV, Yakimenko VV, Malkova MG, Tancev AK, et al. Genetic variability of *Anaplasma phagocytophilum* in ticks and voles from *Ixodes persulcatus*/*Ixodes trianguliceps* sympatric areas from Western Siberia, Russia. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2014; 5(6): 854-863. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.07.008

23. Blaňarová L, Stanko M, Carpi G, Miklisová D, Víchová B, Mošanský L, et al. Distinct *Anaplasma phagocytophilum* genotypes associated with *Ixodes trianguliceps* ticks and rodents in Central Europe. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2014; 5(6): 928-38. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.07.012.

REFERENCES

1. Filippova NA. Sympathy of closely related species of ixodic ticks and its possible role in the parasitic systems of natural foci of vector-borne diseases. *Parazitologiya.* 1999; 33(3): 223-241. (In Russ.)

2. Kozlova IV, Zlobin VI, Verkhozina MM, Rar VA, Lisak OV, Doroshchenko EK, et al. The results of reconnaissance studies on monocytic ehrlichiosis and human granulocytic anaplasmosis in the Baikal region. *Acta biomedica scientifica.* 2007; 3(55): 112-116. (In Russ.)

3. Kozlova IV, Verkhozina MM, Dyomina TV, Dzhioev YuP, Doroshchenko EK, Lisak OV, et al. Combined foci of transmissible tick-borne infections in the Baikal region. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2010; 4(53): 40-46. (In Russ.)

4. Livanova NN, Rar VA, Livanov SG, Igolkina YaP. Diversity of parasitic systems involving small mammals and *Ixodes persulcatus* Schulze in the Northern Urals. *Sibirskiy ehkologicheskij zhurnal.* 2005; (6): 1079-1084. (In Russ.)

5. Rar VA, Pukhovskaya NM, Vysochina NP, Zaynulina ZU, Gulyako LF, Ivanov LI. Distribution and genetic diversity of Ehrlichia and Anaplasma in taiga ticks and small mammals on the territory of the Khabarovsk Territory. *Acta biomedica scientifica.* 2007; 3 (Supplement): 156-159. (In Russ.)

6. Rar VA, Livanova NN, Panov VV, Kozlova IV, Pukhovskaya NM, Vysochina NP, et al. Prevalence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in *Ixodes persulcatus* ticks and small mammals from different regions of Asian part of Russia. *Int J Med Microbiol.* 2008; 298(1): 222-230. doi: 10.1016/j.ijmm.2008.01.001

7. Rar VA, Fomenko NV, Dobrotvorsky AK, Livanova NN, Rudakova SA, Fedorov EG, et al. Tick-borne pathogen detection, Western Siberia, Russia. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 1708-1715.

8. Rar VA, Epikhina TI, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, et al. The study of heterogeneity of 16S rRNA gene and groESL operone in DNA samples of Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia muris, and "Candidatus Neoehrlichia mikurensis" determined in Ixodes persulcatus ticks on the territory of Ural, Siberia and Far East of Russia. *Mol Gen Microbiol Virol.* 2011; 26(2): 66-73. doi: 10.3103/S0891416811020091

9. Sumner JW, Nicholson WL, Massung RF. PCR amplification and comparison of nucleotide sequences from the groESL heat shock operon of Ehrlichia species. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(8): 2087-2092.

10. Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, et al. PCR detection of granulocytic ehrlichia in Ixodes ricinus ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(3): 1002-1007.

11. Savilov ED, Astafyev VA, Zhdanova SN, Zarudnev EA. *Epidemiological analysis: Methods of the statistical processing of materials.* Novosibirsk: Nauka-Tsentr; 2011. (In Russian)

12. Rar VA, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, Vysochina NP, et al. Genetic diversity of Anaplasma and Ehrlichia in Asian part of Russia. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2010; 1(1): 57-65. doi: 10.1016/j.ttbdis.2010.01.002

13. Rar VA, Epikhina TI, Livanova NN, Panov VV, Doroshchenko EK, Pukhovskaya NM, et al. Genetic variability of Anaplasma phagocytophilum in Ixodes persulcatus ticks and small mammals in the Asian part of Russia. *Vector-Borne Zoonot Dis.* 2011; 11(8): 1013-1021. doi: 10.1089/vbz.2010.0266

14. Kawahara M, Suto C, Rikihisa Y, Yamamoto S, Tsuboi Y. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse. *J Clin Microbiol.* 1993; (31): 89-96.

15. Wen B, Rikihisa Y, Mott J, Fuerst PA, Kawahara M, Suto C. Ehrlichia muris sp. nov., identified on the basis of 16S rRNA base sequences and serological, morphological and biological characteristics. *Int J Syst Bacteriol.* 1995; (45): 250-254. doi: 10.1099/00207713-45-2-250

16. Kawahara M, Ito T, Suto C, Shibata S, Rikihisa Y, Hata K, et al. Comparison of Ehrlichia muris strains isolated from wild mice and ticks and serologic evidence of humans and animals with E. muris as antigen. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(4): 1123-1129.

17. Sumner JW, Storch GA, Buller RS, Liddell AM, Stockham SL, Rikihisa Y, et al. PCR amplification and phylogenetic analysis of groESL operon sequences from Ehrlichia ewingii and Ehrlichia muris. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(7): 2746-2749.

18. Von Loewenich FD, Stumpf G, Baumgarten BU, Rollinghoff M, Dumler JS, Bogdan C. A case of equine granulocytic ehrlichiosis provides molecular evidence for the presence of pathogenic Anaplasma phagocytophilum (HGE agent) in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003; 22(5): 303-305. doi: 10.1007/s10096-003-0935-1

19. Cao WC, Zhan L, He J, Foley J, De Vlas SJ, Wu XM, Yang H, Richardus JH, Habbema JD. Natural Anaplasma phagocytophilum infection of ticks and rodents from a forest area of Jilin Province, China. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 75(4): 664-668.

20. Cao WC, Zhao QM, Zhang PH, Dumler JS, Zhang XT, Fang LQ, et al. Granulocytic ehrlichia in Ixodes persulcatus ticks from an area in China where Lyme disease is endemic. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(11): 4208-4210.

21. Rar VA, Golovljova I. Anaplasma, Ehrlichia, and "Candidatus Neoehrlichia" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infect Genet Evol.* 2011; 11(8): 1842-1861. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.019

22. Rar VA, Epikhina TI, Tikunova NV, Yakimenko VV, Malkova MG, Tancev AK, et al. Genetic variability of Anaplasma phagocytophilum in ticks and voles from Ixodes persulcatus/Ixodes trianguliceps sympatric areas from Western Siberia, Russia. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2014; 5(6): 854-863. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.07.008

23. Blaňarová L, Stanko M, Carpi G, Miklisová D, Víchová B, Mošanský L, et al. Distinct Anaplasma phagocytophilum genotypes associated with Ixodes trianguliceps ticks and rodents in Central Europe. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2014; 5(6): 928-38. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.07.012.

Сведения об авторах

Дорощенко Елена Константиновна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8209-616>

Лисак Оксана Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lisak.liza@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3909-7551>

Рар Вера Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБНУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

Сунцова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: olga_syntsova@list.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4057-2890>

Савинова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vipersona2389@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: diwerhoz@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6324-8746>.

Information about the authors

Elena K. Doroshchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8209-616>

Oksana V. Lisak – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lisak.liza@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3909-7551>

Vera A. Rar – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

Olga V. Suntsova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: olga_syntsova@list.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4057-2890>

Julia S. Savinova – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vipersona2389@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Irina V. Kozlova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: diwerhoz@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6324-8746>

Статья получена: 14.01.2019. Статья принята: 04.03.2019. Статья опубликована: 26.04.2019.
Received: 14.01.2019. Accepted: 04.03.2019. Published: 26.04.2019.