

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ *RICKETTSIA HELVETICA*

РЕЗЮМЕ

Рар В.А.¹,
Иголкина Я.П.¹,
Якименко В.В.²,
Тикунов А.Ю.¹,
Никитин А.Я.³,
Епихина Т.И.¹,
Тикунова Н.В.¹

¹ ФГБУН Институт химической биологии
и фундаментальной медицины
СО РАН (630090, г. Новосибирск,
просп. Лаврентьева, 8, Россия)

² ФБУН «Омский
научно-исследовательский институт
природно-очаговых инфекций» (644080,
г. Омск, просп. Мира, 7, Россия)

³ ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский
противочумный институт Сибири
и Дальнего Востока Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
(664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Рар Вера Александровна,
e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

Обоснование. Генетическая вариабельность *Rickettsia helvetica* недостаточно изучена.

Цель исследования. Изучить встречаемость и генетическую вариабельность *R. helvetica* в *Ixodes* spp., собранных в Сибири и на Дальнем Востоке.

Методы. На наличие риккетсий проанализированы клещи, снятые с грызунов в Омской области ($n = 280$) и собранные на флаг на островах Путятина и Русский в Приморском крае ($n = 482$). Для всех образцов риккетсий секвенированы фрагменты гена *gltA*, а для ряда образцов *R. helvetica* дополнительно секвенированы фрагменты 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *htrA* и *groEL* генов и 23S–5S межгенного спейсера.

Результаты. Всего было выявлено четыре вида риккетсий. Из них *R. helvetica* обнаружена в 72,2 % *Ixodes apronophorus* и 18,8 % *Ixodes trianguliceps* из Омской области и в единичных *Ixodes persulcatus* из Омской области и с острова Путятина. Это первое выявление риккетсий в *I. apronophorus*. На основании проведённого филогенетического анализа последовательности *R. helvetica* из данной работы и из базы данных GenBank отнесены к четырём генетическим линиям. Линия I включает европейские изоляты из *Ixodes ricinus*, изоляты из *I. persulcatus* из Западной Сибири и некоторые последовательности из *I. apronophorus*. Все последовательности *R. helvetica* из *I. trianguliceps* из Омской области и из *I. persulcatus* из Республики Коми, а также последовательности из *I. apronophorus* отнесены к линии II. Большинство последовательностей из *I. apronophorus* образуют линию III, а все последовательности *R. helvetica* из *I. persulcatus* с Дальнего Востока – линию IV.

Заключение. Впервые показана генетическая гетерогенность популяции *R. helvetica*. Известные изоляты *R. helvetica* надёжно отнесены к четырём генетическим линиям, однако ассоциация различных линий с определённым видом клеща или с определённой территорией наблюдается не во всех случаях.

Ключевые слова: *Ixodes apronophorus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*, *Rickettsia helvetica*, область симпатрии, генетические линии, филогенетический анализ

Статья поступила: 31.08.2023

Статья принята: 24.11.2023

Статья опубликована: 29.12.2023

Для цитирования: Рар В.А., Иголкина Я.П., Якименко В.В., Тикунов А.Ю., Никитин А.Я., Епихина Т.И., Тикунова Н.В. Генетическая гетерогенность популяции *Rickettsia helvetica*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 91-104. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.8

GENETIC HETEROGENEITY OF *RICKETTSIA HELVETICA* POPULATION

Rar V.A.¹,
Igolkina Ya.P.¹,
Yakimenko V.V.²,
Tikunov A.Yu.¹,
Nikitin A.Ya.³,
Epikhina T.I.¹,
Tikunova N.V.¹

¹ Institute of Chemical Biology
and Fundamental Medicine, Siberian
Branch of the Russian Academy of Sciences
(Lavrentyeva Ave. 8, Novosibirsk 630090,
Russian Federation)

² Omsk Research Institute of Natural Focal
Infections (Mira Ave. 7, Omsk 644080,
Russian Federation)

³ Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor
(Trilissera str. 78, Irkutsk 664047,
Russian Federation)

Corresponding author:
Vera A. Rar,
e-mail: rarv@niboch.nsc.ru

ABSTRACT

Background. To date, the genetic variability of *Rickettsia helvetica* has not been sufficiently studied.

The aim. To study the prevalence and genetic variability of *R. helvetica* in *Ixodes* spp. collected in Western Siberia and the Russian Far East.

Materials and methods. *Ixodes* spp. collected from rodents in the Omsk province, Western Siberia ($n = 280$) and collected by flagging on Putyatin and Russky Islands in Primorsky Krai, Russian Far East ($n = 482$) were analyzed for the presence of *Rickettsia* spp. All positive samples were genotyped for the *gltA* gene fragment. For a number of *R. helvetica* samples, fragments of the 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, *htrA*, and *groEL* genes and 23S–5S intergenic spacer were additionally sequenced.

Results. Four *Rickettsia* species (*R. helvetica*, “*Candidatus Rickettsia tarasevichiae*”, “*Candidatus Rickettsia uralica*”, and “*Candidatus Rickettsia mendelii*”) were found. Of them, *R. helvetica* was identified in 72.2 % of *Ixodes apronophorus* and 18.8 % of *Ixodes trianguliceps* from the Omsk province and in single *Ixodes persulcatus* from the Omsk province and Putyatin Island. This is the first finding of *Rickettsia* spp. in *I. apronophorus*. All known *R. helvetica* sequences from this study and the GenBank database belonged to four well supported monophyletic groups forming genetic lineages I–IV. Lineage I included European isolates from *Ixodes ricinus*, Western Siberian isolates from *I. persulcatus*, and some sequences from *I. apronophorus*. All *R. helvetica* sequences from *I. trianguliceps* from the Omsk province and *I. persulcatus* from the Komi Republic and one sequence from *I. apronophorus* were assigned to lineage II. Most sequences from *I. apronophorus* formed lineage III; all known *R. helvetica* sequences from *I. persulcatus* from the Far East formed genetic lineage IV.

Conclusion. The genetic heterogeneity of *R. helvetica* population was first demonstrated. Known isolates of *R. helvetica* are reliably assigned to four genetic lineages, but not in all cases the association of different lineages with a specific tick species or specific territory was observed.

Key words: *Ixodes apronophorus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*, *Rickettsia helvetica*, sympatric areas, genetic lineages, phylogenetic analysis

Received: 31.08.2023
Accepted: 24.11.2023
Published: 29.12.2023

For citation: Rar V.A., Igolkina Ya.P., Yakimenko V.V., Tikunov A.Yu., Nikitin A.Ya., Epikhina T.I., Tikunova N.V. Genetic heterogeneity of *Rickettsia helvetica* population. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 91–104. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.8

ВВЕДЕНИЕ

Rickettsia helvetica Beati et al. 1993 [Rickettsiaceae; Rickettsiales], принадлежащая к группе клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), является одним из возбудителей риккетсиозов на территории Евразии. Для риккетсиоза, вызванного *R. helvetica*, характерен широкий спектр клинических проявлений: лихорадка чаще протекает без сыпи, описаны случаи перимиеокардита, менингита и саркоидоза [1–5]. Эту инфекцию выявляют в основном в европейских странах. На территории России описан лишь один случай риккетсиоза, вызванного *R. helvetica*, у пациента с признаками острого лихорадочного заболевания из Пермского края [6].

Специфичными переносчиками *R. helvetica* являются клещи рода *Ixodes*. *Rickettsia helvetica* широко распространена в клещах *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) в различных странах Европы [7, 8]. В России *R. helvetica* выявляется на территории разных регионов; при этом в большинстве областей встречаемость этого вида была достаточно низкой и не превышала 5–8 %. Так, *R. helvetica* была обнаружена в 4,6 % таёжного клеща (*Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930)) в Республике Коми [9], 1,9 % *I. persulcatus* в Омской области [10], 5,1 % *Ixodes* spp. в Алтайском крае [11], а также в 8,1 % *Ixodes pavlovskyi* (Pomerantzev, 1946) и в 6,9 % межвидовых гибридов *I. persulcatus*/*I. pavlovskyi* в Республике Алтай [12]. На материковой части Дальнего Востока встречаемость *R. helvetica* в таёжном клеще также была невысока и в отдельных районах Хабаровского края составляла 3,8–4,3 %, а на юге полуострова Камчатки – 2,4 % [13, 14]. Исключение составляет остров Сахалин, на котором встречаемость *R. helvetica* в *I. persulcatus* превышала 60 % [14].

Помимо атакующих людей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, в различных районах Западной Сибири обитают норные клещи *Ixodes trianguliceps* (Birula, 1895) и *Ixodes apronophorus* (Schulze, 1924), все стадии развития которых прокармливаются на мелких млекопитающих. Оба вида имеют обширный, но мозаичный ареал. Клещ *I. apronophorus* является влаголюбивым видом, обитающим на заболоченных территориях; одним из его основных хозяев является европейская водяная полёвка (*Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758)) [15–18].

Исследованию *I. persulcatus* на наличие различных видов риккетсий посвящено много работ; наиболее часто в клещах *I. persulcatus* выявляется «*Candidatus Rickettsia tarasevichiae*» Shpynov et al. 2003 (до 90 % заражённых клещей), и в редких случаях – *R. helvetica*, *Rickettsia heilongjiangensis* Fournier et al. 2006, *Rickettsia raoultii* Mediannikov et al. 2008 и *Rickettsia sibirica* Zdrodovskii 1948 [10, 12, 14, 19]. Клещ *I. trianguliceps* изучен существенно меньше; в наших предыдущих исследованиях в клещах *I. trianguliceps* был обнаружен новый кандидатный вид «*Candidatus Rickettsia uralica*» Igolkina et al. 2015, а также *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» [19]. Данные об инфицированности клещей *I. apronophorus* риккетсиями к началу данной работы отсутствовали.

В южной тайге и подтайге Западной Сибири встречаются области симпатрии трёх видов клещей рода *Ixodes*:

I. persulcatus, *I. trianguliceps* и *I. apronophorus*. В этих областях симпатрии преобладают стадии *I. persulcatus* и все стадии развития *I. trianguliceps* и *I. apronophorus* могут прокармливаться на одних и тех же мелких млекопитающих, что может приводить к передаче каких-либо видов/генотипов риккетсий от одного вида клеща к другому. В предварительных исследованиях нами были обнаружены участки в областях симпатрии *I. apronophorus*/*I. persulcatus*/*I. trianguliceps* на территории Омской области с высокой численностью всех трёх видов клещей [20]. Также большой интерес для изучения представляют острова на Дальнем Востоке, поскольку на одном из этих островов (о. Сахалин) наблюдался неожиданно высокий уровень инфицированности таёжного клеща *R. helvetica* [14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить встречаемость и генетическую вариабельность *R. helvetica* в различных видах клещей рода *Ixodes* на удалённых друг от друга участках Омской области и Дальнего Востока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор клещей

Сбор материала проводился на территории Большешуековского района (участок Ом-Во, 56° 46' с. ш., 72° 03' в. д.) и Знаменского района (участок Ом-Зн, 57° 23' с. ш., 73° 40' в. д.) Омской области, а также на острове Путятина (участок Put 42° 50' с. ш., 132° 25' в. д.) и острове Русский (участок Rus 43° 00' с. ш., 131° 50' в. д.), находящихся в заливе Петра Великого Японского моря на территории Приморского края (рис. 1). В исследование были включены клещи *Ixodes* spp., снятые с грызунов в Омской области, и клещи, собранные на флаг в Приморском крае.

Грызуны были отловлены в Омской области на участке Ом-Во в июне 2016 г. и на участке Ом-Зн с июня по сентябрь 2014–2015 гг. Животные были исследованы на наличие присосавшихся клещей (личинки, нимфы и взрослых особей), которых удаляли пинцетом. Вид и стадию развития клещей предварительно определяли с помощью стереомикроскопа MC-800 (Micros, Австрия), согласно морфологическим ключам [21]. Часть напивавшихся и почти напивавшихся личинок и нимф хранились при температуре 10–15 °С в течение 1–2 недель, а затем транспортировались в лабораторию для проведения метаморфоза. Остальные клещи были помещены в герметичные пластиковые пробирки, которые до выделения ДНК хранились в жидком азоте.

Голодные клещи были собраны с растительности на флаг на острове Путятина в 2021 г. и на о. Русский в 2019 и 2021 гг. Вид и стадию развития клещей предварительно определяли на основании морфологических критериев; в дальнейшую работу были включены только клещи рода *Ixodes*.



РИС. 1.
Места сбора клещей

FIG. 1.
Sites of tick collection

Проведение метаморфоза клещей в лабораторных условиях

Для успешного прохождения метаморфоза частично напивавшиеся личинки и нимфы были докормлены на белых лабораторных мышах. Каждый напивавшийся клещ был помещён в индивидуальную стеклянную пробирку и содержался в темноте при 100%-й относительной влажности при температуре 24–26 °C до завершения линьки. Прошедшие метаморфоз клещи через 4 недели индивидуально замораживались и до выделения из них ДНК хранились при температуре –70 °C.

Выделение ДНК

Замороженных клещей гомогенизировали с помощью прибора MagNA Lyser Instrument с использованием MagNa Lyser Green Beads (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Суммарная ДНК была выделена с помощью набора «Проба НК» (ДНК-Технология, Москва, Россия), согласно протоколу производителя.

Определение вида клещей молекулярно-генетическими методами

Установление видовой принадлежности клещей *I. persulcatus*, *I. trianguliceps*, *I. apronophorus* проводили с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием видоспецифичных праймеров по фрагменту межгенного спейсера ITS2, как описано ранее [20]. Дифференциацию *I. persulcatus*, *I. pavlovskyi* и межвидовых гибридов проводили на основании определения митохондриального (cox1) и ядерного (ITS2) локусов, как описано ранее [12].

Выявление и генотипирование *Rickettsia helvetica*

ДНК риккетсий выявляли с использованием двух-раундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена *gltA* при проведении первого раунда и праймеров, специфичных для «*Candidatus R. tarasevichiae*» и для риккетсий группы КПЛ при проведении второго раунда, как описано ранее [14]. Полученные фрагменты гена *gltA* были секвенированы для всех положительных образцов риккетсий из группы КПЛ. Для ряда положительных образцов, содержащих ДНК *R. helvetica*, с целью последующего секвенирования были дополнительно наработаны фрагменты генов 16S rRNA, *ompA*, *ompB*, *sca4*, and *htrA*, а также фрагмент *groESL* оперона и межгенный спейсер 23S-5S rRNA (23S-5S IGS) в присутствии праймеров, указанных в таблице 1. Дополнительно эти же фрагменты семи генетических локусов были амплифицированы для образцов *R. helvetica*, выявленных ранее на острове Сахалин (участок Skh) и в Хабаровском крае (участок Khab) [14]. Определённые нуклеотидные последовательности были депонированы в базу данных GenBank под номерами доступа OQ092468–OQ092487, OQ102487–OQ102493, OQ271213–OQ271221, OQ275007–OQ275011, OQ675828–OQ675832, OQ861252, OQ866612–OQ866624.

Секвенирование и филогенетический анализ

Продукты ПЦР очищали с использованием колонок GFX (Amersham Biosciences, США). Реакцию секвенирования методом Сенгера выполняли с использованием BigDye Terminator v. 3.1 Cycling Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией производителя. Продукты секвенирования очищали с исполь-

ТАБЛИЦА 1
 ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ
R. HELVETICA

 TABLE 1
 PRIMERS USED FOR *R. HELVETICA* AMPLIFICATION

Локус	Организм	Раунд	Праймер	Последовательность 5'-3'	T (°C)	Ссылка
Ген 16S rRNA	Rickettsia spp.	I	16S1	gacgggtgagtaacacgtggg	56	[14]
			16S2	gtcttttagggatttgctccac		
		II	16S3	gatggatgagcccgctcag	60	
			16S4	gcattctctcgatccgcgac		
Ген ompA Фрагмент I	Rickettsia spp.	Rr190.70p		atggcgaatatttctcaaaa	55	[22]
		190-701		gttcgtaaatggcagcatct		
Ген ompA	Rickettsia spp.	I	Afnw_1	ggcacaatactttaacattacc	52	#
			190-6808	cacgaactttcacactacc		[22]
		II	Afnw_3	aagcctactcctaaagagaatg	53	#
			Afnw_4	cgacagtctctagtgccg		
	Rickettsia spp.	I	A1	taacattacaagctggaggaagcc	58	#
			A2	ttcagagcctgaccaccgg		
		II	A5	caagtgcgtgatgttacta	56	
			A6	tagttacatttctgcacctac		
	R. helvetica	I	Afn1_helv	gtaatactagcatcaccgaaatcc	55	#
			190-6808	cacgaactttcacactacc		[22]
		II	190-5125	gcggttacttttagccaagg	54	#
			Afnw_4	cgacagtctctagtgccg		
Ген ompB	Rickettsia spp.	I	M59 F	ccgcagggttgtaactgc	55	[23]
			120-1497m*	cctatatcgccgtaattgtagc		
		II	BR1	gttactaatggattattcaagt	53	#
			BR2	gcataaactgtccagcgat		
	Rickettsia spp.	I	B2f_5	taaacttgctgacggtacag	56	#
			B2f_2	cgattatgccgttatcgcttccaag		
		II	B2f_3	gtagcctaacaatgctcaaac	52	
			120-2399	cttgttgttaatgttacggt		
	R. helvetica	I	B2f_3	gtagcctaacaatgctcaaac	52	[23]
			B2f_2	cgattatgccgttatcgcttccaag		
		II	B2f_1helv	cagtacaattcgctcacaacac	55	#
			120-2399	cttgttgttaatgttacggt		
	Rickettsia spp.	I	B1	atatgcaggtatcggtact	56	#
			B2	ccatataccgtaagctacat		
		II	B3	gcaggtatcggtactataaac	56	
			B4	aatttacgaaacgattactccgg		
	Rickettsia spp.	I	120-3462	ccacaggaactacaaccatt	52	[23]
			120-4879m*	tagaagtttacacggacttttagag		
		II	B3f_3f	gctggacctgaagctggagc	55	#
			120-4879m*	tagaagtttacacggacttttagag		[23]

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Ген <i>sca4</i>	<i>Rickettsia</i> spp.	I	D1f	atgagtaaagacggtaacct	52	[24]
			D1876rm*	tagtttgtccgccgtaatc		
		II	sc1f_3	gatgtaggtgatgaactctg	52	#
			D1390r	cttgcttttcagcaatatcac		
		I	sc4-1	atgtctctgaattaagcaatgc	52	#
			Rj2837r	cctgatactacccttacatc		
		II	sc4-5	ccggcacaacaacaattgatg	50	#
			sc4-6	cctttaccagctcatctactt		
		I	sc4-3	aattattaggctctgtattaaga	52	#
			D3069r	tcagcgttgtggagggaag		
		II	sc4-5	ccggcacaacaacaattgatg	52	#
			sc4-7	ctctcttttaaataggtgttgatt		
Ген <i>htrA</i>	<i>Rickettsia</i> spp.		17k-5	gctttacaaaattctaaaaccatata	55	[26]
			17k-3	tgtctatcaattcacaacttgcc		
23S-5S IGS	<i>Rickettsia</i> spp.		RCK/23-5-F	gataggtcrgrtgtggaagca	55	[27]
			RCK/23-5-R	tcgggaygggatcgtgtgtttc		
groESL Оперон	<i>Rickettsia</i> spp.	I	Ric-ESL-F1	ggtaaatgggcaggyaccgaa	60	[28]
			Ric-ESL-R1	gaagcaacrgaagcagcatctt		
		II	Ric-ESL-F2	atcgttatgaaagaaagcgayg	58	
			Ric-ESL-R2	agwgcagtacgcactactttagc		

Примечание. T (°C) – температура отжига; m* – модифицированный праймер; # – данная работа.

зованием колонок CentriSep (Princeton Separations, США) и анализировали с помощью ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Анализ последовательности проводили с помощью BlastN [29]. Филогенетический анализ проводили с помощью пакета филогенетических программ MEGA 7.0 [30] с использованием метода максимального правдоподобия (ML, maximum likelihood) [31].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установление видовой принадлежности собранных клещей

Видовая принадлежность всех собранных в Омской области и в Приморском крае иксодовых клещей была установлена с использованием молекулярно-генетических методов. Клещи трёх видов (*I. apronophorus*, *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*) были обнаружены на двух участках Омской области, однако доля клещей разных видов на этих участках существенно различалась. На участке Ом-Во среди 145 клещей, снятых с 29 грызунов, и 20 клещей, снятых с грызунов и прошедших метаморфоз в лабораторных условиях, было выявлено 67 (40,6 %) *I. apronophorus*, 73 (44,2 %) *I. persulcatus* и 25 (15,1 %) *I. trianguliceps*, а на участке Ом-Zn среди 115 клещей, снятых с грызунов и прошедших метамор-

фоз в лабораторных условиях, было обнаружено 5 (4,4 %) *I. apronophorus*, 87 (75,6 %) *I. persulcatus* и 23 (20,0 %) *I. trianguliceps* (табл. 2).

На Дальнем Востоке на острове Путятина среди снятых с растительности на флаг голодных имаго были идентифицированы 56 *I. persulcatus*, 4 *I. pavlovskyi* и один межвидовой гибрид *I. persulcatus/I. pavlovskyi*, а на острове Русский – 190 *I. persulcatus*, 199 *I. pavlovskyi* и 32 межвидовых гибрида (табл. 2).

Выявление *Rickettsia* spp. в клещах *Ixodes* spp. в Омской области

Среди клещей с участка Ом-Во, снятых с грызунов, но не прошедших метаморфоз, ДНК *R. helvetica* была обнаружена в 45 (72,5 %) *I. apronophorus* всех стадий развития (включая 1 случай микст-инфекции *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*») и в 9 (37,5 %) *I. trianguliceps*, но не была выявлена в *I. persulcatus*. При этом все инфицированные *I. trianguliceps* были личинками (табл. 2). Кроме того, в 48 (81,4 %) *I. persulcatus* и 1 (1,6 %) личинке *I. apronophorus* была обнаружена ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*», а в 7 (29,2 %) *I. trianguliceps* – ДНК «*Candidatus R. uralica*». В одной личинке (1,6 %) *I. persulcatus* была выявлена микст-инфекция «*Candidatus R. tarasevichiae*» с *Rickettsia raoultii*.

ТАБЛИЦА 2
ВЫЯВЛЕНИЕ *R. HELVETICA* В КЛЕЩАХ *IXODES* SPP.

TABLE 2
DETECTION OF *R. HELVETICA* IN *IXODES* SPP. TICKS

Участки/ анализируемые клещи	Вид клеща	Стадия	Число клещей	Клещи, содержащие ДНК <i>R. helvetica</i> , абс. (%)
Om-Bo/ снятые с грызунов	<i>I. apronophorus</i>	Личинки	47	33
		Нимфы	5	4
		Имаго	10	8
		Все стадии	62	45 (72,5)
	<i>I. persulcatus</i>	Личинки	55	0
		Нимфы	4	0
		Все стадии	59	0
	<i>I. trianguliceps</i>	Личинки	17	9
		Нимфы	4	0
		Имаго	3	0
		Все стадии	24	9 (37,5)
Om-Bo/ перелинявшие	<i>I. apronophorus</i>	Нимфы	2	1
		Имаго	3	2
		Все стадии	5	3 (60)
	<i>I. persulcatus</i>	Нимфы	3	0
		Имаго	11	0
		Все стадии	14	0
	<i>I. trianguliceps</i>	Нимфы	1	0
		Все стадии	1	0
Om-Zn/ перелинявшие	<i>I. apronophorus</i>	Нимфы	4	3
		Имаго	1	1
		Все стадии	5	4 (80)
	<i>I. persulcatus</i>	Нимфы	23	0
		Имаго	64	1
		Все стадии	87	1 (1,1)
	<i>I. trianguliceps</i>	Нимфы	10	0
		Имаго	13	0
		Все стадии	23	0
Put/ собранные на флаг	<i>I. persulcatus</i>	Имаго	56	1 (1,8)
	<i>I. pavlovskyi</i>	Имаго	4	0
	гибриды	Имаго	1	0
Rus/ собранные на флаг	<i>I. persulcatus</i>	Имаго	190	0
	<i>I. pavlovskyi</i>	Имаго	199	0
	гибриды	Имаго	32	0

Примечание. Полу жирным выделены объединенные данные по всем исследованным стадиям для каждого вида клеща.

Среди перелинявших клещей 3 из 5 *I. apronophorus* с участка Ом-Во и 4 из 5 *I. apronophorus* с участка Ом-Zn содержали ДНК *R. helvetica*. Кроме того, *R. helvetica* была обнаружена в одном перелинявшем *I. persulcatus* в виде микст-инфекции *R. helvetica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» (табл. 2). ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*» была выявлена в 80 (79,2 %) *I. persulcatus* и 2 (8,3 %) *I. trianguliceps* а ДНК «*Candidatus R. uralica*» – в 3 (12,5 %) *I. trianguliceps*. В 1 (1 %) нимфе *I. persulcatus* была выявлена микст-инфекция «*Candidatus R. tarasevichiae*» с *Rickettsia* sp.

Объединяя данные по всем исследованным клещам из Омской области, *R. helvetica* была выявлена в 75,0 %

I. apronophorus, 18,8 % *I. trianguliceps* и 1,9 % *I. persulcatus*, что свидетельствует о тесной экологической связи между *R. helvetica* и *I. apronophorus*.

Выявление *Rickettsia* spp. в клещах *Ixodes* spp. в Приморском крае

ДНК *R. helvetica* была обнаружена лишь в 1 из 56 *I. persulcatus* с острова Путятина, но не была выявлена ни в других видах клещей с того же участка, ни в одном из 421 клеща рода *Ixodes* с острова Русский (табл. 2). ДНК «*Candidatus R. tarasevichiae*» была обнаружена в 42 (75,0 %) *I. persulcatus*, в 1 из 4 *I. pavlovskyi* и в един-

Изоляты	Вид клеща	Регион	Линия	gltA					ompB					sca4		16S
				175525	175576	175847	176092	176156	381079	381549	381958	382176	382239	812583	812147	523727
C9P9	<i>I. ricinus</i>	Европа	I	G	C	T	C	C	G	C	G	G	G	G	C	T
Oм-74_lapr_m	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	I	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
Oм-20_lper_m	<i>I. persulcatus</i>	Сибирь	I	.	.	.	T	.	nd	nd	nd	nd	nd	.	.	nd
Oм-75_ltr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	II	A	.	.	.	T	A	.	A	T	.	.	.	.
Oм-145_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	.	.	.	.	T	A	T	A	.	T	.
Oм-79_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	.	.	.	.	T	A	T	A	.	T	G
Oм-103_lapr	<i>I. apronophorus</i>	Сибирь	III	.	T	A	nd	nd	.	T	nd	nd	nd	.	T	nd
Skh-7_lper	<i>I. persulcatus</i>	Дальний Восток	IV	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	A	.	.
Put-117_lper	<i>I. persulcatus</i>	Дальний Восток	IV	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	A	.	.

a

Изоляты	Линия	gltA			ompA			ompB										sca4					htrA	16S		IGS						
		175525	175576	176156	209675	208648	208557	380060	380249	380592	380622	381079	381549	381958	382176	382239	382562	382824	382895	383024	813613	813472	813341	812583	812147	811867	195041	523727	523907	1187522	1187463	
C9P9	I	G	C	C	C	G	T	T	A	C	T	G	C	G	G	G	G	T	C	G	A	A	C	G	C	G	T	T	A	T	G	
Novosibirsk08-5	I	.	.	.	nd	nd	nd	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Komi	II	.	.	T	nd	nd	nd	.	G	.	C	A	.	A	T	.	A	.	.	.	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Om-74_lapr_m	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Om-75_ltr	II	A	.	T	T	.	.	.	G	T	C	A	.	A	T	.	A	.	.	.	C	G	.	.	.	A	.	.	.	C	.	
Om-145_lapr	III	.	T	.	.	.	.	G	.	.	C	.	T	A	T	A	.	C	T	.	.	.	.	T	.	G	.	G	.	.	.	
Om-79_lapr	III	.	T	.	.	.	.	G	.	.	C	.	T	A	T	A	.	C	T	.	.	.	.	T	.	G	G	G	.	.	.	
Skh-7_lper	IV	.	.	.	.	A	C	.	.	.	C	.	.	A	T	.	.	C	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	C	A	
Put-117_lper	IV	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	A	T	.	.	C	.	A	.	.	T	A	.	.	.	.	.	C	A	

б

РИС. 2.

a – конденсированное выравнивание на основании последовательностей генов *gltA* (840 п. н.), *ompB* (1255 п. н.), *sca4* (783 п. н.) и 16S rRNA (684 п. н.) сиквент-вариантов *R. helvetica*. **б** – конденсированное выравнивание на основании последовательностей генов *gltA* (1037 п. н.), *ompA* (1417 п. н.), *ompB* (3100 п. н.), *sca4* (2398 п. н.), *htrA* (499 п. н.), 16S rRNA (1070 п. н.) генов и межгенного спейсера 23S-5S rRNA (23S-5S IGS) (489 п. н.) генетических линий *R. helvetica*. Полиморфные сайты приведены в соответствии с последовательностью *R. helvetica*, штамм C9P9 (AICO01000000). Несинонимичные замены отмечены зелёным цветом

FIG. 2.

a – condensed alignment of *gltA* (840 bps), *ompB* (1255 bps), *sca4* (783 bps) gene sequences, and 16S rRNA (684 bps) sequence variants of *R. Helvetica*. **б** – condensed alignment of *gltA* (1037 bps), *ompA* (1417 bps), *ompB* (3100 bps), *sca4* (2398 bps), *htrA* (499 bps), 16S rRNA (1070 bps) gene sequences and 23S-5S IGS region (489 bps) of *R. helvetica* genetic lineages. Variable nucleotide positions are given according to the sequence of *R. helvetica*, C9P9 (AICO01000000) strain. Non-synonymous polymorphic sites are highlighted in green

ственном межвидовом гибриде на острове Путятин и в 73,7 % *I. persulcatus*, 5,3 % *I. pavelovskyi* и 31,3 % межвидовых гибридов на острове Русский. В 2 *I. pavelovskyi* на острове Русский была выявлена ДНК «*Candidatus Rickettsia mendelii*» Hajdukova et al. 2016.

Генотипирование *R. helvetica*

Для всех изолятов *R. helvetica* были определены последовательности фрагмента гена *gltA* (840 пар нуклеотидов (п. н.)), и на основе анализа этих последовательностей было выявлено 6 вариантов последовательностей. Для ряда образцов с разными вариантами гена *gltA* были дополнительно отсекарованы фрагменты генов *ompB* (1255 п. н.), *sca4* (783 п. н.) и 16S rRNA (684 п. н.). Сравнительный анализ полученных последовательностей позволил выявить 7 сиквент-вариантов *R. helvetica*, отличающихся между собой 2–8 нуклеотидными заменами; при этом все обнаруженные сиквент-варианты отличались от последовательности прототипного штамма C9P9 (AICO01000001) (рис. 2а).

Филогенетический анализ, основанный на сравнении объединённых последовательностей *gltA* – *ompB* – *sca4* общей длиной 2259 п. н., показал, что полученные последовательности относятся к четырём генетическим линиям (рис. 3). Образцы, относящиеся к линии I (европейская линия), образовывали общий кластер вместе с прототипным штаммом *R. helvetica* C9P9, изолированным из клеща *I. ricinus* из Швейцарии. Последовательности линии I были выявлены только на участке Ом-Зн в трёх *I. apronophorus* и в одном *I. persulcatus* (табл. 3); эти последовательности отличались от последовательностей *R. helvetica* C9P9 единичными заменами по генам *gltA* или *ompB* (рис. 2а). Линия II (*I. trianguliceps* линия) включала все образцы *R. helvetica* из клещей *I. trianguliceps* и один образец из перелинявшего *I. apronophorus* с участка Ом-Во. Определённые в данной работе последовательности линии II были идентичны ранее секвенированным последовательностям

из двух нимф *I. trianguliceps*, снятых с грызунов из другого района Омской области. Линия III (*I. apronophorus* линия) была наиболее многочисленной и включала последовательности из 48 *I. apronophorus*, преимущественно с участка Ом-Во. Образцы из этой линии были генетически гетерогенны – один образец отличался единичной заменой по гену *gltA* от остальных; кроме того, 5 образцов из клещей, снятых с одного грызуна, имели одинаковую замену в гене 16S rRNA. Линия IV (дальневосточная линия) включала все определённые последовательности *R. helvetica* из *I. persulcatus* с Дальнего Востока: островов Путятин, Сахалин и Хабаровского края (табл. 3).

Поскольку большинство изолятов *R. helvetica* из базы данных GenBank были охарактеризованы только по гену *ompB*, мы использовали этот локус для сравнения полученных нами последовательностей *R. helvetica* с опубликованными ранее. Филогенетический анализ, основанный на сравнении последовательностей гена *ompB* длиной 2684 п. н., показал наличие всё тех же четырёх генетических линий. На основании проведённого анализа европейская линия (линия I) дополнительно содержала ряд образцов *R. helvetica* из *I. ricinus* из Германии и один образец из *I. persulcatus* из Новосибирской области, а *I. trianguliceps* линия (линия II) дополнительно включала 32 образца *R. helvetica* из *I. persulcatus* из Республики Коми (рис. 4). Анализ последовательностей гена *sca4* показал, что дальневосточная линия также включает образцы *R. helvetica* из *I. persulcatus* из Японии [25].

Для более детального генотипирования последовательности генов 16S рРНК (1070 п. н.), *gltA* (1037 п. н.), *ompA* (1417 п. н.), *ompB* (3100 п. н.), *sca4* (2398 п. н.), *htrA* (499 п. н.), *groEL* (1528 п. н.), а также 23S-5S IGS (489 п. н.) были определены для восьми образцов *R. helvetica*, принадлежащих к разным генетическим линиям. Все последовательности гена *groEL* были идентичны. Остальные генетические локусы имели полиморфные сайты;

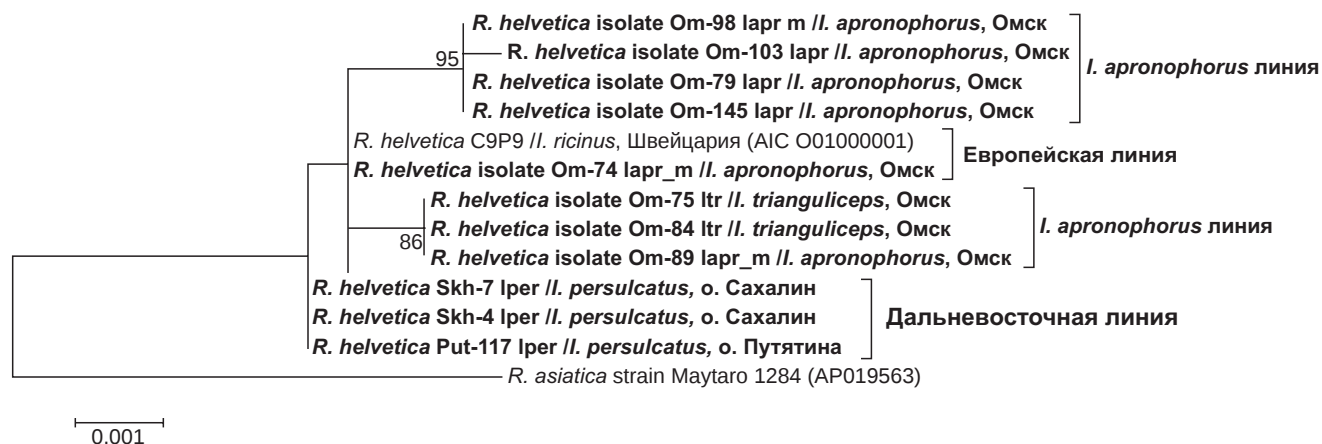


РИС. 3.

Дендрограмма, построенная методом ML на основе объединённых последовательностей фрагментов генов *gltA* – *ompB* – *sca4* (2259 п. н.). Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе

FIG. 3.

Phylogenetic tree constructed using the ML method based on concatenated sequences of three genes *gltA* – *ompB* – *sca4* (2259 bps). The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

ТАБЛИЦА 3
РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ РАЗНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ЛИНИЙ *R. HELVETICA* В *IXODES* SPP.

Участок	Вид клеща	Анализируемые клещи	Число генотипированных образцов <i>R. helvetica</i>	Число образцов <i>R. helvetica</i> , относящихся к линии			
				I	II	III	IV
Om-Bo	<i>I. apronophorus</i>	Не перелинявшие	45	0	0	45	0
		Перелинявшие	3	0	1	2	0
		Всего	48	0	1	47	0
Om-Zn	<i>I. trianguliceps</i>	Не перелинявшие	9	0	9	0	0
	<i>I. apronophorus</i>	Перелинявшие	4	3	0	1	0
	<i>I. persulcatus</i>	Перелинявшие	1	1	0	0	0
Put	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	1	0	0	0	1
Khab	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	1	0	0	0	1
Skh	<i>I. persulcatus</i>	Собранные на флаг	4	0	0	0	4

TABLE 3
DISTRIBUTION OF DIFFERENT GENETIC LINEAGES
OF *R. HELVETICA* IN *IXODES* SPP.

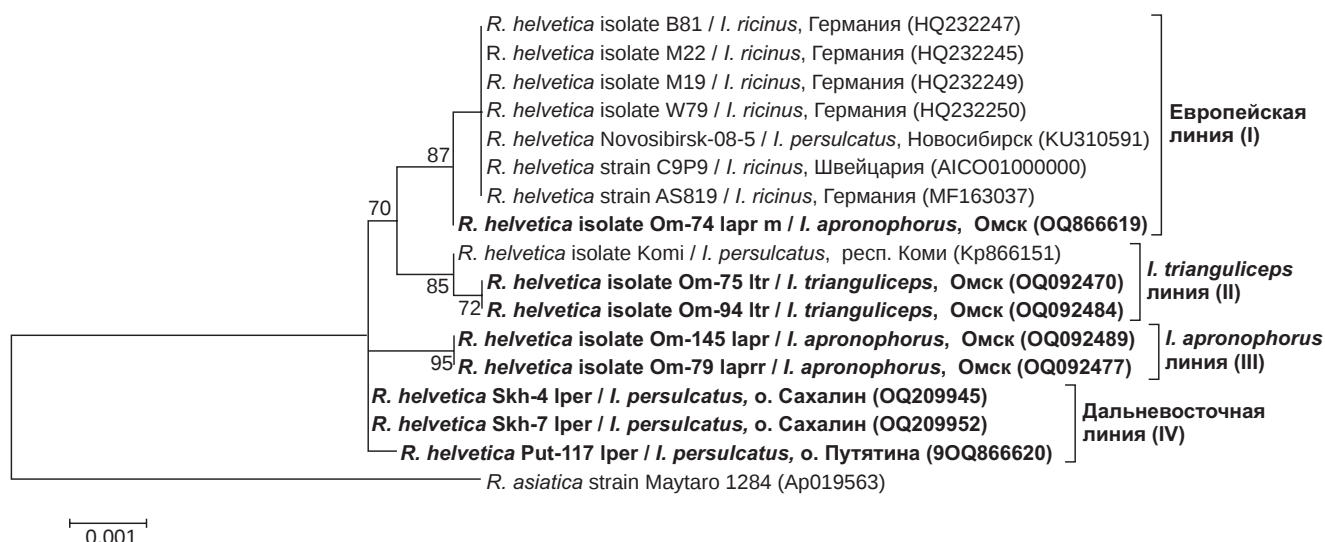


РИС. 4. Дендрограмма, построенная методом ML на основе последовательностей фрагмента гена *ompB* (2684 п. н.) *R. helvetica*. Последовательности *R. asiatica* были использованы как аутгруппа. Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе.

FIG. 4. Phylogenetic tree constructed using the ML method based on sequences of the *ompB* gene fragment (2684 bps) of *R. helvetica*. The sequences of *R. asiatica* were used as outgroup. The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

из них ген *ompB* был наиболее вариабельным. Среди кодирующих последовательностей нуклеотидные замены в 15 из 25 полиморфных сайтов были несинонимичными (рис. 26). Филогенетический анализ, основанный на сравнении объединённых последовательностей 16S – *gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – IGS (9840 п. н.), также показал с высоким уровнем поддержки наличие четырёх кластеров, которые соответствовали генетическим линиям, идентифицированным на основании анализа более коротких последовательностей (рис. 5). Следует отметить, что внутри каждой генетической линии образцы *R. helvetica* различались между собой 1–2 нуклеотидными заменами. При этом в случае генетических линий I и II образцы из Омской области отличались от образцов из других регионов, а в случае генетической линии IV образец с острова Путятин отличался двумя заменами от образцов с Сахалина.

клеточными заменами. При этом в случае генетических линий I и II образцы из Омской области отличались от образцов из других регионов, а в случае генетической линии IV образец с острова Путятин отличался двумя заменами от образцов с Сахалина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разные виды риккетсий, как правило, ассоциированы с определёнными видами клещей. *Rickettsia helvetica* тесно связана с клещами рода *Ixodes* и является

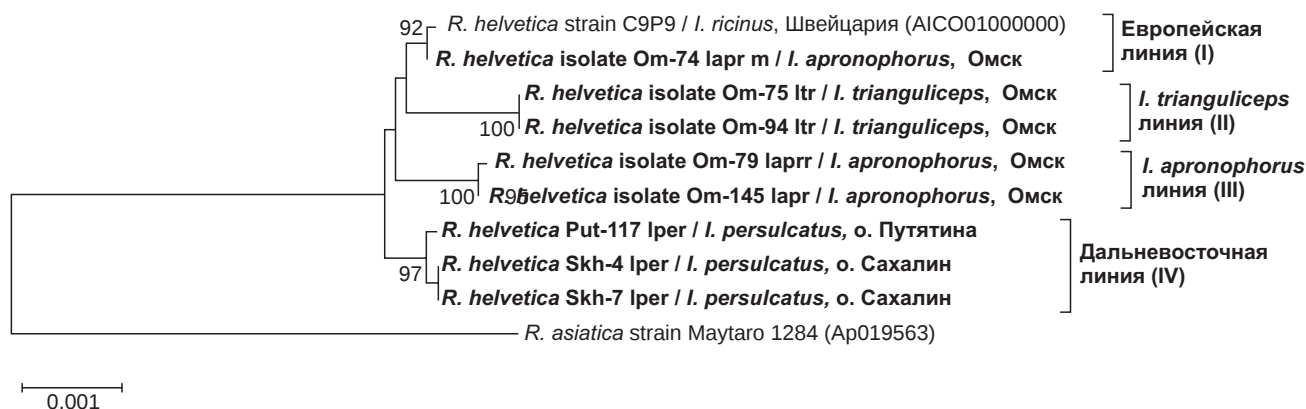


РИС. 5.

Дендрограмма, построенная методом ML на основе объединённых последовательностей фрагментов семи локусов (*gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – 16S rRNA – IGS) (9840 п. н.). Жирным шрифтом выделены последовательности, полученные в данной работе

FIG. 5.

Phylogenetic tree constructed using the ML method based on concatenated sequences of seven loci fragments (*gltA* – *ompA* – *ompB* – *sca4* – *htrA* – 16S rRNA – IGS) (9840 bps). The sequences of *R. helvetica* determined in this study are given in bold

ся доминирующим видом риккетсий в *I. ricinus* в Европе и в *I. persulcatus* в некоторых областях России (остров Сахалин и Республика Коми) [7, 9, 14].

Изучение инфицированности клещей инфекционными агентами в областях симпатрии представляет особый интерес, поскольку позволяет сравнить ассоциацию патоген – клещ для разных видов клещей на одной территории. В данную работу были включены клещи, собранные на двух участках в областях симпатрии *I. apronophorus*/*I. persulcatus*/*I. trianguliceps* на территории Омской области; на участке Ом-Во численность всех трёх видов клещей была высокой, а на участке Ом-Зн *I. persulcatus* доминировал, а численность *I. apronophorus* была низкой. В данной работе впервые риккетсии были выявлены в *I. apronophorus*. *Rickettsia helvetica* были обнаружены в 60–80 % клещей различных стадий развития с обоих участков, что свидетельствует о тесной ассоциации *R. helvetica* с *I. apronophorus* (табл. 2).

На территории Омской области *R. helvetica* была также обнаружена в единичных *I. persulcatus* и в 38 % снятых с грызунов *I. trianguliceps* с участка Ом-Во. Следует отметить, что *R. helvetica* была обнаружена только в личинках *I. trianguliceps*, но не в нимфах и имаго (табл. 2). Поскольку все личинки, инфицированные *R. helvetica*, были сняты только с двух полёвок, наблюдаемое несоответствие можно объяснить недостаточным количеством исследуемых *I. trianguliceps* и неравномерным распределением инфицированных и неинфицированных личинок, являющихся потомством от разных самок. Таким неравномерным распределением личинок можно объяснить и тот факт, что все образцы *R. helvetica* с уникальной заменой в гене 16S rRNA были идентифицированы только в личинках (но не во взрослых особях) *I. apronophorus*, собранных с одной и той же полёвки.

Помимо областей симпатрии в Омской области, в исследование были включены клещи, собранные на двух островах в Приморском крае. Поскольку ранее на острове Сахалин был отмечен неожиданно высокий уровень

инфицирования таёжного клеща *R. helvetica*, можно было ожидать, что на других островах также будет наблюдаться нетипичное распределение *Rickettsia* spp. в разных видах клещей. Тем не менее, на исследуемых островах Путятина и Русский, как и на материковой части Дальнего Востока и в Западной Сибири [10, 12–14, 19], в клещах *I. persulcatus* существенно доминировал «*Candidatus R. tarasevichiae*», а *R. helvetica* была выявлена лишь в одном *I. persulcatus* на острове Путятина (табл. 2).

Rickettsia helvetica является высоко вариабельным видом. Анализ секвенированных в данной работе и доступных в базе данных GenBank последовательностей данного вида позволил отнести изоляты *R. helvetica* к четырём генетическим линиям, однако ассоциация различных линий с определённым видом клеща или с определённой территорией наблюдалась не во всех случаях. Так, генетическая линия I объединяла все генотипированные образцы от *I. ricinus* из Европы, ряд образцов от *I. apronophorus* из Омской области и образцы от *I. persulcatus* из Омской и Новосибирской областей. Генетическая линия *I. trianguliceps* (линия II) была обнаружена в двух разных видах *Ixodes* spp. в удалённых друг от друга регионах: в *I. trianguliceps* в Омской области и *I. persulcatus* в Республике Коми. В то же время генетическая линия *I. apronophorus* (линия III) выявлена только в *I. apronophorus* в Омской области; а дальневосточная генетическая линия (линия IV) обнаружена только в *I. persulcatus* на Дальнем Востоке. Таким образом, в образцах из Омской области было идентифицировано три генетических линии *R. helvetica*, а в образцах с Дальнего Востока – только одна линия.

Наблюдаемая высокая генетическая гетерогенность популяции *R. helvetica* может быть связана с широким кругом их переносчиков: *I. ricinus*, *I. pavlovskyi*, *I. persulcatus*, *I. apronophorus*, *I. trianguliceps*, *Ixodes hexagonus* (Leach 1815), *Ixodes arboricola* (Schulze & Schlottke, 1929), *Ixodes ovatus* (Neumann, 1899) и *Ixodes monospinosus* (Saito, 1968) [7, 9, 12, 14, 32]. Следует от-

метить, что в *I. trianguliceps* был обнаружен только один вариант последовательности, относящийся к генетической линии II, тогда как в *I. apronophorus* были идентифицированы пять вариантов последовательностей, относящиеся к трём генетическим линиям (табл. 3). В клещах *I. persulcatus* также были секвенированы последовательности, относящиеся к трём линиям: к линии I – в клещах из Западной Сибири, к линии II – в клещах из Республики Коми; к линии IV – в клещах из Дальнего Востока. Такое несоответствие может быть связано со значительно более высокой генетической вариативностью клещей *I. apronophorus* и *I. persulcatus* по сравнению с *I. trianguliceps* [20].

В настоящее время нет достоверных данных, подтверждающих наличие трансмиссивной передачи риккетсий при совместном кормлении клещей. Хотя такая передача может происходить в искусственных условиях (в случае *Rickettsia rickettsia* (Wolbach 1919) Brumpt 1922)), её влияние на передачу возбудителя в природе представляется незначительным [33]. Наше исследование снятых с грызунов личинок показало отсутствие эффективной трансмиссивной передачи *R. helvetica* между разными видами *Ixodes* spp. в процессе одновременного питания на мелких млекопитающих. Действительно, все снятые с грызунов личинки *I. persulcatus* не были инфицированы *R. helvetica*, личинки *I. apronophorus* содержали ДНК *R. helvetica* только из линии III, а личинки *I. trianguliceps* – только из линии II (табл. 2, 3). Примечательно, что ассоциация между видами клещей и вариантами *R. helvetica* сохранялась, даже когда личинки разных видов прокармливались на одном и том же грызуне.

Следует отметить, что данные по генетической вариативности *R. helvetica* ограничены небольшим количеством исследованных регионов и включают преимущественно образцы из Германии, Республики Коми, Омской и Новосибирской областей и Дальнего Востока. Необходимо дальнейшее генотипирование образцов *R. helvetica* из других регионов и разных видов клещей для оценки распространённости различных генетических линий этого вида. Не исключено, что разные генетические линии *R. helvetica* могут различаться по своим патогенным свойствам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые показан высокий уровень инфицированности клещей *I. apronophorus* патогенным для людей видом *R. helvetica*. Для образцов *R. helvetica* из Омской области была отмечена высокая генетическая вариативность. Впервые показано, что изоляты *R. helvetica* можно надёжно отнести к четырём генетическим линиям, однако строгой ассоциации различных линий *R. helvetica* с определённым видом клеща или с определённой территорией не наблюдалось.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Государственного задания ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (№ 121031300043-8).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Fournier PE, Grunnenberger F, Jaulhac B, Gastinger G, Raoult D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, eastern France. *Emerg Infect Dis*. 2000; 6(4): 389-392. doi: 10.3201/eid0604.000412
2. Fournier PE, Allombert C, Supputamongkol Y, Caruso G, Brouqui P, Raoult D. Aneuptic fever associated with antibodies to *Rickettsia helvetica* in Europe and Thailand. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(2): 816-818. doi: 10.1128/JCM.42.2.816-818.2004
3. Nilsson K, Lindquist O, Pålsson C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet*. 1999; 354(9185): 1169-1173. doi: 10.1016/S0140-6736(99)04093-3
4. Nilsson K, Pålsson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, Lindquist O. Presence of *Rickettsia helvetica* in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. *J Infect Dis*. 2002; 185(8): 1128-1138. doi: 10.1086/339962
5. Nilsson K, Elfving K, Pålsson C. *Rickettsia helvetica* in patient with meningitis, Sweden, 2006. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16(3): 490-492. doi: 10.3201/eid1603.090184
6. Неведова В.В., Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В., Горелова Н.Б., Воробьева Н.Н. Микроорганизмы порядка *Rickettsiales* у таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Sch.) в Предуралья. *Вестник ПамН*. 2008; 7: 47-50. [Nefedova VV, Korenberg EI, Kovalevskii YV, Vorobyeva NN. Microorganisms of the order *Rickettsiales* in taiga tick (*Ixodes persulcatus* Sch.) from the Pre-Ural region. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2008; 7: 47-50. (In Russ.)].
7. Silaghi C, Gilles J, Höhle M, Pradel I, Just FT, Fingerle V, et al. Prevalence of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in southern Germany. *J. Med. Entomol*. 2008; 45: 948-955. doi: 10.1603/0022-2585(2008)45[948:posfgr]2.0.co;2
8. Stanko M, Derdákova M, Špitálská E, Kazimírová M. Ticks and their epidemiological role in Slovakia: From the past till present. *Biologia (Bratisl)*. 2022; 77(6): 1575-1610. doi: 10.1007/s11756-021-00845-3
9. Kartashov MY, Glushkova LI, Mikryukova TP, Korabelnikov IV, Egorova YI, Tupota NL, et al. Detection of *Rickettsia helvetica* and *Candidatus R. tarasevichiae* DNA in *Ixodes persulcatus* ticks collected in Northeastern European Russia (Komi Republic). *Ticks Tick Borne Dis*. 2017; 8: 588-592. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.04.001
10. Shpynov SN, Fournier PE, Rudakov NV, Samoilenko IE, Reshetnikova TA, Yastrebov VK, et al. Molecular identification of a collection of spotted Fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia. *Am J Trop Med Hyg*. 2006; 74(3): 440-443.
11. Rakov AV, Chekanova TA, Petremgvdilshvili K, Timonin AV, Valdokhina AV, Shirokostup SV, et al. High prevalence of *Rickettsia raoultii* found in Dermacentor ticks collected in Barnaul, Altai Krai, Western Siberia. *Pathogens*. 2023; 12(7): 914. doi: 10.3390/pathogens12070914

12. Rar V, Livanova N, Sabitova Y, Igolkina Y, Tkachev S, Tikunov A, et al. *Ixodes persulcatus/pavlovskiyi* natural hybrids in Siberia: Occurrence in sympatric areas and infection by a wide range of tick-transmitted agents. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(6): 101254. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.05.020
13. Пуховская Н.М., Рар В.А., Иванов Л.И., Высочина П.Н., Иголкина Я.П., Фоменко Н.В., и др. Выявление методом ПЦР возбудителей природно-очаговых инфекций, переносимых клещами, на полуострове Камчатка. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2010; 4: 36-39. [Pukhovskaia NM, Rar VA, Ivanov LI, Vysochina NP, Igolkina IaP, Fomenko NV, et al. PCR detection of the causative agents of infections transmitted by ticks on the Kamchatka Peninsula. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni.* 2010; 4: 36-39. (In Russ.)].
14. Igolkina Y, Bondarenko E, Rar V, Epikhina T, Vysochina N, Pukhovskaya N, et al. Genetic variability of *Rickettsia* spp. in *Ixodes persulcatus* ticks from continental and island areas of the Russian Far East. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7: 1284-1289. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.06.005
15. Малькова М.Г., Богданов И.И. Паразитофауна водяной полевки (*Arvicola terrestris*) и ее гнезд на юге Западной Сибири. *Паразитология.* 2004; 38: 33-45. [Malkova MG, Bogdanov II Parasite fauna of the water vole *Arvicola terrestris* and its nests in south of Western Siberia. *Parazitologiya.* 2004; 38: 33-45. (In Russ.)].
16. Karimov AV, Korrallo-Vinarskaya NP, Kuzmenko YF, Vinarski MV. *Ixodes apronophorus* Schulze (Acari: Ixodida: Ixodidae): Distribution, abundance, and diversity of its mammal hosts in West Siberia (Results of a 54-year long surveillance). *Diversity.* 2022; 14: 702. doi: 10.3390/d14090702
17. Якименко В.В., Малькова М.Г., Шпынов С.Н. *Иксодовые клещи Западной Сибири: фауна, экология, основные методы исследования.* Омск; 2013. [Yakimenko VV, Malkova MG, Shpynov SN. *Ixodid ticks of the Western Siberia: Fauna, ecology, basic research methods.* Omsk; 2013. (In Russ.)].
18. Nowak-Chmura M, Siuda K. Ticks of Poland. Review of contemporary issues and latest research. *Ann Parasitol.* 2012; 58(3): 125-55.
19. Igolkina YP, Rar VA, Yakimenko VV, Malkova MG, Tancev AK, Tikunov AY, et al. Genetic variability of *Rickettsia* spp. in *Ixodes persulcatus/Ixodes trianguliceps* sympatric areas from Western Siberia, Russia: Identification of a new *Candidatus Rickettsia* species. *Infect Genet Evol.* 2015; 34: 88-93. doi: 10.1016/j.meegid.2015.07.015
20. Rar V, Yakimenko V, Tikunov A, Vinarskaya N, Tancev A, Babkin I, et al. Genetic and morphological characterization of *Ixodes apronophorus* from Western Siberia, Russia. *Ticks and Tick-Borne Diseases.* 2020; 11(1): 101284. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.101284
21. Филиппова Н.А. *Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae.* Ленинград: Наука; 1977. [Filippova NA. *Ixodid ticks of the subfamily Ixodinae.* Leningrad: Nauka; 1977. (In Russ.)].
22. Fournier PE, Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. *Int J Syst Bacteriol.* 1998; 48 (3): 839-849. doi: 10.1099/00207713-48-3-839
23. Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). *Int J Syst Evol Microbiol.* 2000; 50: 1449-1455. doi: 10.1099/00207713-50-4-1449
24. Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51(4): 1353-1360. doi: 10.1099/00207713-51-4-1353
25. Matsumoto K, Inokuma H. Identification of spotted fever group *Rickettsia* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the *sca4* gene. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6): 747-749. doi: 10.1089/vbz.2008.0098
26. Labruna MB, McBride JW, Bouyer DH, Camargo LM, Camargo EP, Walker DH. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. *J Med Entomol.* 2004; 41(3): 533-537. doi: 10.1603/0022-2585-41.3.533
27. Jado I, Escudero R, Gil H, Jiménez-Alonso MI, Sousa R, García-Pérez AL, et al. Molecular method for identification of *Rickettsia* species in clinical and environmental samples. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(12): 4572-4576. doi: 10.1128/JCM.01227-06
28. Shao JW, Zhang XL, Li WJ, Huang HL, Yan J. Distribution and molecular characterization of rickettsiae in ticks in Harbin area of Northeastern China. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; 14(6): e0008342. doi: 10.1371/journal.pntd.0008342
29. National Library of Medicine. *Basic Local Alignment Search Tool.* URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> [date of access: 05.09.2023].
30. *Molecular Evolutionary Genetics Analysis.* URL: <http://www.megasoftware.net/manual.html> [date of access: 05.09.2023].
31. Kumar Lab – Laboratory of Sudhir Kumar. URL: <http://www.kumarlabs.net/publications> [date of access: 05.09.2023].
32. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(4): 657-702. doi: 10.1128/CMR.00032-13
33. Moraes-Filho J, Costa FB, Gerardi M, Soares HS, Labruna MB. *Rickettsia rickettsii* co-feeding transmission among *Amblyomma aureolatum* ticks. *Emerg Infect Dis.* 2018; 24(11): 2041-2048. doi: 10.3201/eid2411.180451

Сведения об авторах

Рар Вера Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

Иголкина Яна Петровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: igolkina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5604-1846>

Якименко Валерий Викторович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией арбовирусных инфекций отдела природно-очаговых вирусных инфекций, ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», e-mail: yakimenko_vv@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Тикунев Артем Юрьевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией противомикробных препаратов, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: arttik@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5613-5447>;

Никитин Алексей Яковлевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: nikitin_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

Епихина Тамара Ивановна – ведущий инженер лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: tiepikhina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-7077-1809>

Тикунова Нина Викторовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: tikunova@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>

Information about the authors

Vera A. Rar – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

Yana P. Igolkina – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: igolkina@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5604-1846>

Valeriy V. Yakimenko – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Arbovirus Infections of the Department of Natural Focal Viral Infections, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, e-mail: yakimenko_vv@oniipi.org, <https://orcid.org/0000-0001-9088-3668>

Artem Yu. Tikunov – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Antimicrobials, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: arttik@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5613-5447>

Aleksey Yu. Nikitin – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Zoological and Parasitological Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: nikitin_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

Tamara I. Epikhina – Lead Engineer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tiepikhina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-7077-1809>

Nina V. Tikunova – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tikunova@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-8278>