

УДК 57.083.18:579.841.95:576.895.42

**ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ТАЕЖНОГО КЛЕЩА  
*IXODES PERSULCATUS* SCHULZE, 1930 В ЦИРКУЛЯЦИИ  
ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ  
ЛЕСНОГО ТИПА**

© 2019 г. М. И. Кормилицына<sup>а, \*</sup>, Э. И. Коренберг<sup>а</sup>,  
Т. В. Михайлова<sup>а</sup>, Ю. В. Ковалевский<sup>а</sup>, Д. В. Транквилевский<sup>б</sup>

<sup>а</sup> Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии  
им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства Здравоохранения  
Российской Федерации, ул. Гамалеи, 18, Москва, 123098 Россия

<sup>б</sup> Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора,  
Варшавское ш., 19А, Москва, 117105 Россия

\* e-mail: mkormilits@mail.ru

Поступила в редакцию 18.02.2019 г.

После доработки 11.03.2019 г.

Принята к публикации 11.03.2019 г.

Исследованы 260 нимф и такое же количество взрослых особей таежного клеща *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, собранных с мелких лесных млекопитающих и растительности в южнотаежных лесах низкогорий Среднего Урала (Чусовской район Пермского края). Клещи (по 2 особи в пуле) исследованы методом ПЦР в реальном времени с родо- и видоспецифическими праймерами на наличие ДНК *Francisella* и *Francisella tularensis* McCoy et Chapin. Фрагмент гена *16S rRNA Francisella* spp. выявлен в 70 из 130 пулов нимф (53.8 %) и 50 из 130 пулов взрослых клещей (38.5 %). В подавляющем большинстве положительных образцов обнаружена ДНК *F. tularensis*: 85.7 % положительных проб нимф и 98 % взрослых клещей. Полученные данные свидетельствуют о возможности участия клеща *I. persulcatus* в циркуляции возбудителя туляремии в природных очагах лесного типа.

**Ключевые слова:** *Francisella tularensis*, *Ixodes persulcatus*, лесной тип очага.

**DOI:** 10.1134/S0031184719030037

Природные очаги туляремии широко распространены в пределах Северного полушария. Основное значение для инфекционной патологии человека имеет возбудитель туляремии – *Francisella tularensis* McCoy et Chapin, объединяющий 4 подвиды: *F. t. tularensis*, *F. t. mediasiatica*, *F. t. holarctica* и *F. t. novicida*. В настоящее время в род *Francisella* также включены другие виды: *F. halioticida*, *F. hispaniensis*, *F. marina*, *F. noatunensis*, *F. persica*, *F. philomiragia* (National Center for Biotechnology Information, 2019). К этому же роду были отнесены так называемые *Francisella*-like бактерии (FLE). Они обнаружены в клещах разных родов: *Amblyomma* Koch, 1844, *Dermacentor* Koch, 1844, *Haemaphysalis* Koch, 1844, *Hyalomma* Koch, 1844, *Ixodes* Latreille, 1795, *Rhipicephalus* Koch, 1844 и *Ornithodoros* Koch, 1844 (National Center for Biotechnology Information, 2019). Вероятно, это облигатные эндосимбионты, близкие к возбудителю

туляремии (Bonnet et al., 2017). FLE широко распространены в Европе и были идентифицированы у *D. reticulatus* Fabricius, 1794, *Hyalomma marginatum* Panzer, 1795, *H. aegyptium* L., 1758 и *R. sanguineus* Latreille, 1806 в Болгарии, Германии, Венгрии, Португалии, Словакии, Франции, Сербии и Польше (Sréter-Lancz et al., 2009; De Carvalho et al., 2011; Ivanov et al., 2011; Gehringer et al., 2013; Kreizinger et al., 2013; Michelet et al., 2013; Tomanović et al., 2013; Wójcik-Fatla et al., 2015; Špitalská et al., 2018). Данные о выявлении FLE у клещей в Российской Федерации отсутствуют.

Описаны следующие типы природных очагов туляремии: степной, луго-полевой, лесной, пойменно-болотный, предгорно/горно-ручьевой, тугайный и тундровый (Максимов, 1957; Олсуфьев, Дунаева, 1970). Очаги туляремии лесного типа остаются наименее изученными, хотя они широко распространены в лесной зоне Евразии. Известно, что им свойствен сравнительно «вялый» эпизоотический процесс и слабое эпидемическое проявление (Каменова, 1987; Коренберг и др., 1987 и др.). Циркуляцию возбудителя поддерживают мелкие млекопитающие, зайцы, а также кровососущие членистоногие-переносчики, в частности иксодовые клещи, которые, по всей видимости, могут быть длительными хранителями инфекции (Олсуфьев, Дунаева, 1970; Keim et al., 2007; Petersen, 2009). Ранее ДНК *F. tularensis* обнаружена нами в очаге лесного типа в клещах *I. trianguliceps* Virula, 1895 (Кормилицына и др., 2016), все фазы развития которого паразитируют на мелких млекопитающих и не нападают на человека (Korenberg, Lebedeva, 1969; Филиппова, 1977).

Из иксодовых клещей в лесной зоне Евразии наиболее распространен треххозяинный таежный клещ *I. persulcatus* Schulze, 1930 (Коренберг и др., 1969; Филиппова, 1977; Коренберг, 1979; 1985; Филиппова, 2017). Это вид с пастбищным типом паразитизма, обитающий в лесных биотопах нескольких зональных формаций растительности от Прибалтики до Тихого океана (Филиппова, 1977; Коренберг, 1985). Таежный клещ хорошо известен как основной переносчик многих экологически связанных с ним возбудителей: клещевого энцефалита, иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза, моноцитарного эрлихиоза, риккетсиозов, а также микст-инфекций (Korenberg et al., 2001; Коренберг, 2008; Коренберг и др., 2013; Филиппова, 2011; 2017). От клеща *I. persulcatus* культура туляремийного микроба впервые выделена в 1941 г. в Западной Сибири на границе темнохвойных и лиственных лесов (Карпов, Попов, 1944). Единичные культуры были позднее изолированы методом биопробы от взрослых клещей этого вида, собранных в лесах Северо-Запада России и Дальнего Востока (Олсуфьев, Дунаева, 1970; Коренберг и др., 1987).

Цель нашей работы – получение молекулярно-биологическими методами более полных данных о возможном участии клеща *I. persulcatus* в циркуляции *F. tularensis* в природных очагах лесного типа.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клещи собраны в 2005–2011 гг. в южно-таежных лесах низкогорий Среднего Урала (Чусовской р-н Пермского края; 58°33' с. ш., 57°28' в. д.). Учет численности мелких млекопитающих проводили в два тура (в июне и августе) линиями ловушек Шермана (по 25–50 в каждой), которые ежегодно расставляли в определенных местах различных биотопов; объем учетов в каждом туре составлял от 400 до 1900 ловушко-ночей. Приемы сбора клещей, методика учета мелких млекопитающих и его результаты, а также биоценотические особенности стационара, на кото-

ром проведены многолетние наблюдения, подробно описаны ранее (Ковалевский и др., 2004, 2013; Korenberg et al., 2015; Кормилицына и др., 2016).

Исследованы 520 клещей *I. persulcatus*: 260 в разной степени напитавшихся нимф, снятых со 133 мелких млекопитающих 6 видов, и столько же голодных взрослых клещей, собранных с растительности на флаг. Из нимф и взрослых клещей было составлено по 130 пулов, каждый из которых включал 2 особи. На разные годы пришлось от 8 до 46 пулов нимф и такое же количество пулов взрослых клещей (табл. 1). Клещей сохраняли до исследования в 70 % этаноле.

Пулы гомогенизировали в пробирках со 150 мкл фосфатно-буферного раствора. Для экстракции ДНК использовали набор «Проба НК» (ДНК-Технология, Россия). Суспензии клещей исследовали на наличие ДНК методом ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов и анализом специфичности по кривым плавления по «конечной точке» (Кормилицына и др., 2016). Для выявления ДНК франциселл, включая FLE бактерии, амплифицировали участок гена *16S rRNA* (размером 218–226 п.н.) с родоспецифичными праймерами NC-Fran16Sr-F/Fr1281R0,1. Для идентификации видовой принадлежности ДНК применяли праймеры и зонды: 1) *lpnA2F/R* и *lpnA2P* (82 п.н.), 2) *ISFtu2F/R* и *ISFtu2P* (97 п.н.) (Кормилицына и др., 2016, Михайлова и др., 2017). Некоторые ДНК образцов дополнительно исследовали в ПЦР-РВ с праймерными парами *iglCFt-F/R* (5'-3') TTGCTTGTAATATACTCGAAACTTT / GATTCTTTAACTATAGCTGGGGA (226 п.н.) (по: Тимофеев, 2015, с изменениями). Использованные праймеры, зонды и реакционные смеси изготовлены ЗАО «Синтол» (Россия). Объем исследуемой ДНК-матрицы составлял 5 мкл, объем конечной смеси – 25 мкл. Состав реакционных смесей, использование контролей, условия проведения ПЦР и гель-электрофореза описаны ранее (Кормилицына и др., 2016). Для последующего секвенирования полученного ПЦР-продукта его качество и концентрацию некоторых ДНК-ампиконов проверяли методом гель-электрофореза.

Секвенирование ДНК проведено с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer в Центре коллективного пользования «ГЕНОМ» (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН). Фрагменты матрицы ДНК подготавливали методом прямого переосаждения ДНК-продукта в мягких условиях (по рекомендации упомянутого Центра). Таксономическую принадлежность полученных нуклеотидных последовательностей определяли с помощью сайта Европейского нуклеотидного архива (European Bioinformatics Institute, 2019). Данные секвенированных образцов сравнивали с известными последовательностями геномов и участков генов, имеющих в ENA, с помощью программы *blastn* из пакета BLAST+ версии 2.7.1. Построение кладограммы последовательностей полученных образцов и частичных фрагментов сиквенсов некоторых представителей рода *Francisella*, найденных в GenBank, проводили с использованием метода соседнего присоединения без коррекции расстояния с помощью программы MUSCLE версии 3.8.31 (European Bioinformatics Institute, 2019).

Статистическая обработка выполнена для уровня значимости 0.95. В качестве доверительных интервалов при расчете процентов (P) приняты удвоенные значения ошибки выборочной доли ( $2m_p$ ). Сравнение результатов проведено по t-критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Фрагмент гена *16S rRNA* ДНК *Francisella* sp. выявлен в 70 из 130 ( $53.8 \pm 8.7$  %) пулов нимф клещей, питавшихся на зверьках. Частота выявления ДНК франциселл у голодных взрослых клещей оказалась достоверно ( $t = 2.5 > 2.0$ ) ниже: ПЦР-положительные были только 50 из 130 пулов, т.е.  $38.5 \pm 8.5$  % (табл. 1). Эти различия мы объясняем

**Таблица 1.** Результаты выявления ДНК бактерий рода *Francisella* в пулах нимф и взрослых клещей *I. persulcatus*

| Год сбора нимф | Исследовано нимф / взрослых клещей | Исследовано пулов нимф |   | ¹ Возможная доля нимф, содержащих ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> (%) | Исследовано пулов взрослых клещей |   | ¹ Возможная доля взрослых клещей, содержащих ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> (%) |
|----------------|------------------------------------|------------------------|---|--|-----------------------------------|---|---|
|                |                                    | Всего                  | Из них с ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> |  | Всего                             | Из них с ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> |   |
| 2005           | 24/0                               | 12                     | 7   | 29.1–58.3  | –                                 | –   | –   |
| 2006           | 28/24                              | 14                     | 5   | 17.8–35.7  | 12                                | 8   | 33.3–66.7   |
| 2007           | 34/28                              | 17                     | 6   | 17.6–35.3  | 14                                | 9   | 32.1–64.3   |
| 2008           | 16/34                              | 8                      | 4   | 25.0–50.0  | 17                                | 5   | 14.7–29.4   |
| 2009           | 66/16                              | 33                     | 16  | 24.2–48.5  | 8                                 | 0   | –   |
| 2010           | 0/66                               | –                      | –   | –  | 33                                | 3   | 4.5–9.0   |
| 2011           | 92/92                              | 46                     | 32  | 34.8–69.6  | 46                                | 25  | 27.1–54.3   |
| 2005–2011      | 260/260                            | 130                    | 70  | 26.9–53.8  | 130                               | 50  | 19.2–38.5   |

Примечание: ¹ см. объяснение в тексте. Прочерк – нет данных.

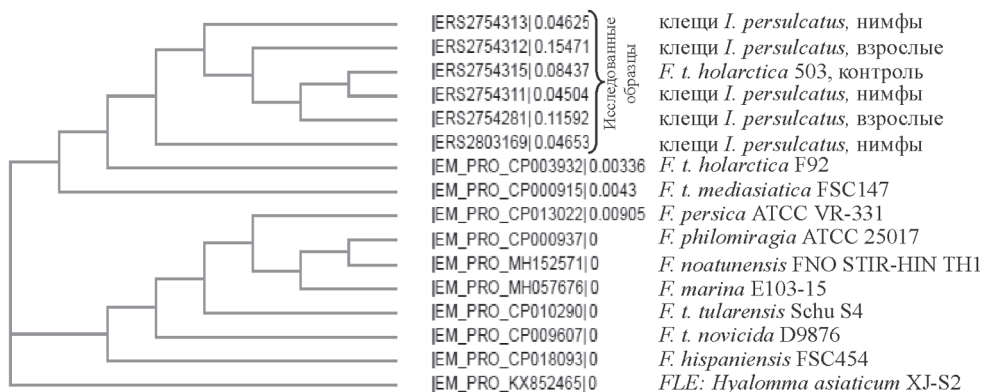
уменьшением или утратой генетического материала туляремийных бактерий в процессе метаморфоза клещей (Олсуфьев, Дунаева, 1960, 1970).

ДНК *Francisella* обнаруживалась в паразитарной системе на протяжении всего многолетнего периода сбора исследованных клещей. У взрослых клещей она не выявлена только в одном (2009) году – вероятно, из-за малого количества исследованных клещей.

Поскольку исследованные пулы содержали по 2 клеща, любой пул мог содержать только одну или двух нимф (или взрослых клещей) с ДНК бактерий рода *Francisella*. Если во всех положительных пулах было по одному клещу с ДНК, их возможная общая доля (в % от общего числа исследованных особей) была минимальной, а во втором случае – вдвое большей. Эти значения приведены в табл. 1 и 2. Так как вероятность таких вариантов оставалась неизвестной, мы полагаем, что реальные показатели доли клещей с ДНК должны быть между указанными в этих таблицах предельными значениями.

Последовательности пяти секвенированных образцов ДНК-фрагментов (3 от нимфальных пулов и 2 от взрослых особей), а также контрольного типового штамма 503 (из музейной коллекции лаборатории туляремии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) депонированы в ENA с номерами доступа: ERS2754311, ERS2754313, ERS2803169, ERS2754312, ERS2754281 и ERS2754315, соответственно. Анализ последовательностей всех образцов ПЦП-продуктов показал их большое сходство (91–97 %) с фрагментом гена *16S rRNA* представителей *Francisella* sp., имеющихся в ENA. Результаты сравнения отражает кладограмма (рис. 1). Последовательности нуклеотидов 5 ампликонов ДНК, выявленных в пулах клещей *I. persulcatus*, оказались в одной кладе с группой сиквентов локуса гена *16S rRNA* представителей *Francisella*, причем ближе к подвидам *holarctica* и *mediasiatica* микроба *F. tularensis*.

Все ДНК-положительные образцы были проверены на наличие видоспецифических участков генов-мишеней (ПЦП-РВ с *lfnA2F/R+lfnA2P* и *ISFtu2F/R+ISFtu2P*). Подавляющее большинство образцов идентифицировано как *F. tularensis*: 60 из 70 положи-



**Рис. 1.** Кладограмма полученных сиквентов исследованных образцов ДНК и последовательностей аналогичных участков гена *16S rRNA* некоторых представителей *Francisella*, депонированных в GenBank (European Bioinformatics Institute, 2019).

Таблица 2. Результаты выявления ДНК *Francisella* и *F. tularensis* в пулах нимф *I. persulcatus*, собранных со зверьков разных видов

| Виды хозяев исследованных клещей                      | Число зверьков, с которых сняты нимфы | Исследовано нимф | Исследовано пулов нимф | Из них с ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> | <sup>1</sup> Возможная доля нимф, содержащих ДНК бактерий рода <i>Francisella</i> (%) | Исследовано пулов с ДНК рода <i>Francisella</i> | Количество проб ДНК, отнесенных к <i>F. tularensis</i> | <sup>1</sup> Возможная доля нимф, сохранивших ДНК <i>F. tularensis</i> (%) |
|---|---------------------------------------|------------------|------------------------|---|---|---|--|--|
| Рыжая полевка ( <i>Myodes glareolus</i> Schreber)     | 66                                    | 132              | 66                     | 40  | 30.3–60.6   | 40  | 34   | 25.8–51.6  |
| Красная полевка ( <i>M. rutilus</i> Pallas)           | 37                                    | 68               | 34                     | 19  | 27.9–55.8   | 19  | 17   | 25.0–50.0  |
| Малая лесная мышь ( <i>Apodemus uralensis</i> Pallas) | 20                                    | 38               | 19                     | 10  | 26.3–52.6   | 10  | 8  | 21.1–44.2  |
| Красно-серая полевка ( <i>M. rufocanus</i> Sundevall) | 5                                     | 14               | 7                      | 1   | 7.1–14.2  | 1   | 1  | 7.1–14.2   |
| Полевка-экономка ( <i>Microtus oeconomus</i> Pallas)  | 4                                     | 6                | 3                      | 0   | –   | 0   | –  | –  |
| Средняя буроzubка ( <i>Sorex caecutiens</i> Laxmann)  | 1                                     | 2                | 1                      | 0   | –   | 0   | –  | –  |

Примечание: <sup>1</sup> см. примечание к табл. 1. Прочерк – нет данных.

тельных проб нимф ( $85.7 \pm 8.4 \%$ ) и 49 из 50 проб взрослых клещей ( $98.0 \pm 3.9 \%$ ). Неопределенная видовая принадлежность остальных ДНК *Francisella* (10 пулов нимф и 1 взрослых клещей) с фрагментами небольшого размера позволяет думать, что они принадлежат FLE, которые содержатся в организме *I. persulcatus*. Не исключено, что эти сходные по родовой принадлежности микроорганизмы относятся к числу еще не описанных и не патогенных для человека симбионтов клещей (Коренберг, 2012).

ДНК *Francisella* и *F. tularensis* выявлена у нимф, снятых с мелких млекопитающих четырех видов (табл. 2). Это три вида лесных полевков рода *Myodes* Pallas (включая красно-серую полевку, хотя было исследовано только 7 пулов) и малая лесная мышь. В единичных пулах от полевки-экономки и средней бурозубки ДНК *Francisella* sp. не обнаружена. При исследовании репрезентативных пулов нимф не отмечены существенные различия в частоте положительных результатов у клещей, кормившихся на разных видах зверьков. Так, возможная доля нимф, содержащих ДНК бактерий рода *Francisella*, как и ДНК непосредственно возбудителя туляремии, среди клещей, снятых со зверьков трех наиболее массовых видов (Ковалевский и др., 2013), по всей вероятности, была примерно сходной (табл. 2).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Приведенные выше данные свидетельствуют о возможной роли клеща *I. persulcatus* в циркуляции возбудителя туляремии в природных очагах лесного типа на территории Пермского края, где, кроме этого вида, из иксодовых клещей обитает только *I. trianguliceps*. В этом регионе видовой состав мелких млекопитающих – основных прокормителей преимагинальных фаз *I. persulcatus*, а также всех фаз *I. trianguliceps* – почти идентичен, причем на зверьке одновременно часто паразитируют клещи обоих видов (Ковалевский и др., 2013; Korenberg et al., 2015). Ранее (Кормилицына и др., 2016) нами была выявлена ДНК *F. tularensis* у клещей *I. trianguliceps*, снятых, в основном, со зверьков тех же видов, которые указаны в табл. 1. В целом, доля пулов с ДНК возбудителя туляремии (одинаковых по количеству клещей в исследованных пулах) у *I. persulcatus* существенно не отличалась от таковой у *I. trianguliceps*.

Инфицированные нимфы *I. persulcatus* при кровососании способны передавать *F. tularensis* животным – их прокормителям. Мелкие лесные млекопитающие, с которых нами были сняты нимфы *I. persulcatus*, относятся к группе высоковосприимчивых и высокочувствительных к туляремийному микробу видов (Олсуфьев, Дунаева, 1970). Экспериментально показано, что, несмотря на это, животные данной группы могут переносить хроническую туляремийную инфекцию, поддерживая диссеминацию возбудителя в природном очаге при некрофагии погибших грызунов или при попадании бактерий в субстрат их обитания (Шлыгина, 1996).

Многолетние наблюдения, проведенные в районе наших исследований, выявили изменения численности мелких лесных млекопитающих, которые имеют в основном трехлетнюю цикличность. В годы их высокой летней численности на них прокармливаются множество личинок и часть нимф *I. persulcatus*, причем зачастую, как уже отмечено выше, и клеща *I. trianguliceps*. В следующем весенне-летнем сезоне обычно наблюдается повышенная численность взрослых голодных клещей *I. persulcatus*. Эти процессы способствуют горизонтальной и вертикальной передаче возбудителей, которые экологически связаны с иксодовыми клещами, и (или) их генетического материала (Korenberg et al., 2002; Ковалевский и др., 2004, 2013; Кормилицына и др., 2016).

Результаты исследований, приведенные в табл. 1, согласуются с этими представлениями: в 2004, 2007 и 2008 гг. наблюдались максимальные пики, а в 2010 г. – повышенная численность мелких млекопитающих. Соответственно, 2005, 2008, 2009 и 2011 гг. характеризуются наиболее высокими показателями возможной доли нимф, содержащих ДНК бактерий рода *Francisella*. В отношении взрослых клещей такая зависимость оказалась менее четкой, что мы склонны объяснять значительно более широким, чем у личинок, кругом прокормителей нимф – предшественников взрослых клещей.

Итак, приведенные нами данные свидетельствуют о том, что существование природных очагов туляремии лесного типа в Пермском крае, как и в других регионах (Балашов, 2010), могут поддерживать разные виды иксодовых клещей и позвоночных животных. Результаты применения молекулярно-биологических методов для индикации фрагментов генома бактерий рода *Francisella* позволяют предполагать, что таежный клещ может иметь важное эпизоотическое значение. В регионе наших исследований *I. persulcatus* – единственный антропофильный вид иксодовых клещей, причем, за редкими исключениями, на человека нападают исключительно голодные взрослые клещи. В весенне-летний период население ежегодно интенсивно контактирует с этими клещами (Korenberg et al., 2001). Например, в течение пяти лет (2013–2017 гг.) в медицинских учреждениях Пермского края в среднем регистрировалось примерно по 17.5 тыс. в год обращений людей по поводу присасывания клеща. Это обуславливает неизменно высокий уровень заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами, клещевым энцефалитом и другими трансмиссивными инфекциями (Фризен и др., 2004; Коренберг и др., 2007; Тетерин и др., 2013), но не туляремией. Несмотря на значительную долю голодных взрослых особей таежного клеща с ДНК возбудителя этой инфекции, за 20 лет (1997–2017) в Пермском крае зарегистрировано всего 11 заболеваний туляремией, т.е. в среднем менее 1 случая в год. Это с большой вероятностью свидетельствует о единичном трансмиссивном пути заражения пациентов в результате присасывания клеща и исключает другие свойственные туляремии пути передачи ее возбудителя, с которыми обычно связаны групповые или массовые эпидемические вспышки. Следует, однако, учитывать, что выявление ДНК того или иного возбудителя у любых животных свидетельствует лишь об их контактах с этим возбудителем. Само по себе факт обнаружения ДНК, по нашему мнению (Коренберг, 2010; Коренберг и др., 2013; Кормилицына и др., 2016), недостаточен для выводов об их истинной роли как переносчиков или резервуарных хозяев в эпизоотическом и эпидемическом процессах.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные материалы мы рассматриваем лишь как свидетельство возможного участия таежного клеща в эпизоотическом процессе в природных очагах туляремии лесного типа, а также небольшой (по сравнению с классическими облигатно-трансмиссивными инфекциями) вероятности заражения человека трансмиссивным путем при присасывании взрослых особей *I. persulcatus*. Это, видимо, один из основных факторов, определяющих слабые эпидемические проявления природных очагов туляремии данного типа.



## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-00009).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Балашов Ю.С. 2010. Значение популяционной структуры иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) поддержания природных очагов инфекций. Зоологический журнал **89** (1): 18–25.
- Каменнова Л.С. 1987. Итоги сероаллергического обследования населения на туляремию по трассе БАМ в Хабаровской крае. В кн.: Коренберг Э.И. (ред.). Природноочаговые инфекции зоны хозяйственного освоения БАМ. М., НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, с. 116–118.
- Карпов С.П., Попов В.М. 1944. Иксодовые клещи как резервуар возбудителя туляремии в природных условиях Западной Сибири. Медицинская паразитология и паразитарные болезни **13** (2): 75–79.
- Ковалевский Ю.В., Коренберг Э.И., Горелова Н.Б. 2004. Многолетняя динамика эпизоотического процесса природных очагов иксодовых клещевых боррелиозов в горнотаежных лесах Среднего Урала. Паразитология **38** (2): 105–121.
- Ковалевский Ю.В., Коренберг Э.И., Горелова Н.Б., Нефедова В.В. 2013. Экология клеща *Ixodes trianguliceps* и его роль в природных очагах иксодовых клещевых боррелиозов Среднего Урала. Зоологический журнал **92** (5): 505–516.
- Коренберг Э.И., Жуков В.И., Шаткаускас А.В., Бушуева Л.К. 1969. Распространение таежного клеща (*Ixodes persulcatus*) в СССР. Зоологический журнал **48** (7): 1003–1014.
- Коренберг Э.И., 1979. Биохорологическая структура вида (на примере таежного клеща). М., Наука, 170 с.
- Коренберг Э.И. 1985. Границы ареала и его тип. В кн.: Филиппова Н. А. (ред.). Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л., Наука, с. 188–193.
- Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В., Бусоедова Н.М. 1987. Природный очаг туляремии лесного типа в восточной части зоны БАМ. В кн.: Коренберг Э. И. (ред.). Природноочаговые инфекции зоны хозяйственного освоения БАМ. М., НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, с. 106–115.
- Коренберг Э.И., Воробьева Н.Н., Сумливая О.Н., Фризен В.И., Афанасьева М.В. 2007. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика). Пермь, 67 с.
- Коренберг Э.И., 2008. Современные черты природной очаговости клещевого энцефалита: новые или хорошо забытые. Медицинская паразитология и паразитарные болезни **3**: 3–8.
- Коренберг Э.И. 2010. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. Зоологический журнал **89** (1): 5–17.
- Коренберг Э.И. 2012. Молекулярно-биологические методы и изучение феномена природной очаговости болезней. Успехи современной биологии **135** (5): 448–462.
- Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. 2013. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М., Комментарий, 463 с.
- Кормилицына М.И., Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В., Мещерякова И.С. 2016. Первая молекулярно-генетическая идентификация возбудителя туляремии у клещей *Ixodes trianguliceps* Vir. в России. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология **34** (2): 67–70.
- Максимов А.А. 1957. Принципы типизации и опыт ландшафтной характеристики природных очагов туляремии Западной Сибири. Известия Новосибирского отдела географического общества СССР **1**: 53–67.
- Михайлова Т.В., Демидова Т.Н., Кормилицына М.И., Квасов Д.А., Козорезов А.В., Транквиловский Д.В. 2017. Эпизоотическая активность и эпидемическое проявление природных очагов туляремии в Воронежской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика **92** (1): 16–21.
- Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. 1960. Эпизоотология (природная очаговость) туляремии. В кн.: Олсуфьев Н.Г., Руднев Г.П. (ред.) Туляремия. М., Медгиз, 136–206.
- Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. 1970. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М., Медицина, 272 с.
- Тетерин В.Ю., Коренберг Э.И., Нефедова В.В., Воробьева Н.Н., Фризен В.И., Помелова В.Г. 2013. Клинико-лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами в Пермском крае. Эпидемиология и инфекционные болезни **4**: 11–15.
- Тимофеев В.С. 2015. Генетическое разнообразие *Francisella tularensis* из природных очагов России. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Оболенск, 24 с.
- Филиппова Н.А. 1977. Фауна СССР. Паукообразные. Иксодовые клещи подсемейства Ixodidae. Л., Наука, т. 4, вып. 4, 396 с.

- Филиппова Н.А. 2011. Особенности биоразнообразия Европейской фауны иксодовых клещей (Acari, Ixodidae) как переносчиков возбудителей природноочаговых болезней. *Паразитология* **45** (3): 161–181.
- Филиппова Н.А. 2017. История ареала у иксодовых клещей (Acari, Ixodidae) – переносчиков возбудителей природноочаговых болезней как один из факторов формирования их внутривидового биоразнообразия. *Энтомологическое обозрение* **96** (1): 157–184.
- Фризен В.И., Афанасьева М.В., Коренберг Э.И., Воробьева Н.Н., Наумова Л.М., Девятков М.Ю. 2004. Место заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, в инфекционной патологии Пермской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* **15** (2): 27–29.
- Шлыгина К.Н. 1996. Персистенция *Francisella tularensis* в организме высокочувствительных животных. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии* **2**: 110–112.
- Bonnet S.I., Binetruy F., Hernández-Jarguín A.M., Duron O. 2017. The tick microbiome: why non-pathogenic microorganisms matter in tick biology and pathogen transmission. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **7**: 236. doi: 10.3389/fcimb.2017.00236
- de Carvalho I.L., Santos N., Soares T., Zé-Zé L., Nuncio M.S. 2011. *Francisella*-like endosymbiont in *Dermacentor reticulatus* collected in Portugal. *Vector-borne and Zoonotic Diseases* **11** (2): 185–188.
- European Bioinformatics Institute. 2019. ENA, European Nucleotide Archive. Режим доступа: <https://www.ebi.ac.uk/ena/data/sequence/search> (18 февраля 2019).
- Gehring H., Schacht E., Maylaender N., Zeman E., Kaysser P., Oehme R., Pluta S., Spletstoesser W.D. 2013. Presence of an emerging subclone of *Francisella tularensis holarctica* in *Ixodes ricinus* ticks from south-western Germany. *Ticks and Tick-borne Diseases* **4** (1–2): 93–100.
- Ivanov I.N., Mitkova N., Reye A.L., Hübschen J.M., Vatcheva-Dobrevska R.S., Dobрева E.G., Kantardjiev T.V., Muller C.P. 2011. Detection of new *Francisella*-like tick endosymbionts in *Hyalomma* spp. and *Rhipicephalus* spp. (Acari: Ixodidae) from Bulgaria. *Applied and Environmental Microbiology* **77** (15): 5562–5565.
- Keim P., Johansson A., Wagner D.M. 2007. Molecular epidemiology, evolution, and ecology of *Francisella*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1105**: 30–66.
- Korenberg E.I., Lebedeva N.N. 1969. Distribution and some general features of the ecology of *Ixodes trianguliceps* Bir. in the Soviet Union. *Folia Parasitologica* **16**: 143–152.
- Korenberg E.I., Gorban' L.Ya., Kovalevskii Yu.V., Frizen V.I., Karavanov A.S. 2001. Risk for human tick-borne encephalitis, borrelioses and double infection in the Pre-Ural region of Russia. *Emerging Infectious Diseases* **7** (3): 459–462.
- Korenberg E.I., Kovalevskii Yu.V., Gorelova N.B. 2002. Tick-host-Borrelia population interactions: long-term records in East Europe. *Experimental and Applied Acarology* **28** (1-4): 225–229.
- Korenberg E.I., Kovalevskii Yu.V., Gorelova N.B., Nefedova V.V. 2015. Comparative analysis of the roles of *Ixodes persulcatus* and *I. trianguliceps* ticks in natural foci of ixodid tick-borne borrelioses in the Middle Urals, Russia. *Ticks and tick-borne diseases* **6** (4): 316–321.
- Kreizinger Z., Hornok S., Dán A., Hresko S., Makrai L., Magyar T., Bhide M., Erdélyi K., Hofmann-Lehmann R., Gyurancz M. 2013. Prevalence of *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts in the tick population of Hungary and the genetic variability of *Francisella*-like agents. *Vector-borne and Zoonotic Diseases* **13** (3): 160–163.
- Michelet L., Bonnet S., Madani N., Moutailler S. 2013. Discriminating *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts in *Dermacentor reticulatus* ticks: evaluation of current molecular techniques. *Veterinary Microbiology* **163** (3–4): 399–403.
- National Center for Biotechnology Information. 2019. Taxonomy Browser. Режим доступа: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=262&lvl=3&p=nucore&p=genome&p=has\\_linkout&p=blast\\_url&p=genome\\_blast&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=262&lvl=3&p=nucore&p=genome&p=has_linkout&p=blast_url&p=genome_blast&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock) (18 февраля 2019).
- Petersen J.M., Mead P.S., Schriefer M.E. 2009. *Francisella tularensis*: an arthropod-borne pathogen. *Veterinary Research* **40** (2): 7. <https://dx.doi.org/10.1051/vetres:2008045>.
- Špitalská E., Sparagano O., Stanko M., Schwarzová K., Špitalský Z., Škultéty L., Havlíková S. F. 2018. Diversity of *Coxiella*-like and *Francisella*-like endosymbionts, and *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii* as pathogens in the tick populations of Slovakia, Central Europe. *Ticks and Tick-borne Diseases* **9** (5): 1207–1211.
- Sréter-Lancz Zs., Széll Z., Sréter T., Márialigeti K. 2009. Detection of a novel *Francisella* in *Dermacentor reticulatus*: a need for careful evaluation of PCR-based identification of *Francisella tularensis* in Eurasian ticks. *Vector-borne and Zoonotic Diseases* **9** (1): 123–126.
- Tomanović S., Chochlakis D., Radulović Z., Milutinović M., Cakić S., Mihaljica D., Tselentis Y., Psaroulaki A. 2013. Analysis of pathogen co-occurrence in host-seeking adult hard ticks from Serbia. *Experimental and Applied Acarology* **59** (3): 367–376.
- Wójcik-Fatla A., Zając V., Sawczyn A., Cisak E., Sroka J., Dutkiewicz J. 2015. Occurrence of *Francisella* spp. in *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland. *Ticks and Tick-borne Diseases* **6** (3): 253–257.

**POSSIBLE INVOLVEMENT OF THE TAIGA TICK *IXODES PERSULCATUS*  
SCHULZE IN THE CIRCULATION OF TULAREMIA CAUSATIVE AGENT  
IN NATURAL FOCI OF FOREST TYPE**

M. I. Kormilitsyna, E. I. Korenberg, T. V. Mikhaylova, Yu. V. Kovalevskii,  
D. B. Trankvilevsky

**Keywords:** *Francisella tularensis*, *Ixodes persulcatus*, forest type focus.

SUMMARY

260 nymphs and the same number of adult of the taiga ticks *Ixodes persulcatus* collected from small forest mammals and vegetation in the southern taiga forests of the low mountains of the Middle Urals (Chusovskaya district of the Perm region) were investigated. Ticks (2 individuals in each pool) were studied by real time PCR (RT PCR) for the presence of *Francisella* DNA. *16S rRNA* fragment gene (amplicon size 218–226) was detected in 70 of 130 nymph pools (53.8 %) and 50 of 130 adults (38.5 %). All positive samples were checked using species-specific primers and probes complementary to a fragment of the *lpnA* gene and the *ISFtu2*-element. The overwhelming majority of samples identified as *F. tularensis*: 60 of 70 nymph pools (85.7 %) and 49 of 50 adults (98 %). The obtained data indicate the possibility of the involvement of the tick *I. persulcatus* in the circulation of tularemia causative agent in natural foci of the forest type. There is a small probability of human infection by sucking adult of this taiga tick.