

# «*CANDIDATUS MIDICHLORIA MITOCHONDRII*» — НОВЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ ПОРЯДКА *RICKETTSIALES*, ЭНДОСИМБИОНТ КЛЕЩЕЙ *IXODES RICINUS*

С.Н. Шпынов

ФГБУ Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ,  
Москва, Россия

**Резюме.** Эндосимбионт иксодовых клещей *Ixodes ricinus* «*Candidatus Midichloria mitochondrii*» единственная из известных бактерий, которая может вторгаться и существовать внутри митохондрий животных. Ее хозяин — иксодовый клещ *I. ricinus*, является переносчиком возбудителей важных природно-очаговых заболеваний человека. «*Candidatus M. mitochondrii*» обнаружена в межмембранном пространстве митохондрий и в цитоплазме овариальных клеток у 100% самок *I. ricinus*. При локализации в слюнных железах клещей бактерия содержит жгутик. «*Candidatus M. mitochondrii*» имеет две группы генов (*cbb3* цитохром оксидазу и флагеллин) уникальных для представителей порядка *Rickettsiales*, что позволяет ей играть важную роль в эмбриогенезе клещей *I. ricinus* и вызывать сероконверсию у 58% пациентов с присасыванием этого вида клещей в анамнезе. Недавно в порядке *Rickettsiales* было предложено выделить семейство «*Candidatus Midichloriaceae*» и внутри него род «*Candidatus Midichloria*», получившие названия в честь «*Candidatus M. mitochondrii*». Эта бактерия вместе с генетически близкородственными микроорганизмами образовала группу MALOs (*midichloria and like organisms*), представители которой продемонстрировали связь с широким кругом хозяев: от членистоногих до инфузорий, амёб, губок, рыб, различных животных и человека. В настоящее время отсутствуют данные о возможности репликации «*Candidatus M. mitochondrii*» в организме человека и патогенности этого микроорганизма. Несмотря на высокий процент серопозитивных проб, полученных от лиц с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе, эту бактерию пока нельзя рассматривать как ответственную за патологию человека по примеру известных патогенных представителей порядка *Rickettsiales* (риккетсии, анаплазмы и эрлихии). Требуется пересмотреть отношение к иммунному ответу к слюне *I. ricinus* с учетом потенциального воздействия «*Candidatus M. mitochondrii*». Следует рассматривать высокую возможность роли этой бактерии в иммунном ответе и иммуномодуляции у человека с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе. ДНК «*Candidatus M. mitochondrii*» была впервые генотипирована в клещах *I. ricinus* на территории Европейской части Российской Федерации.

**Ключевые слова:** «*Candidatus Midichloria mitochondrii*», эндосимбионт, группа MALOs (*midichloria and like organisms*), порядок *Rickettsiales*, иксодовые клещи, *Ixodes ricinus*, митохондрия.

---

**Адрес для переписки:**

Шпынов Станислав Николаевич  
123098, Россия, Москва, ул. Н.Ф. Гамалеи, 18, ФГБУ ФНИЦ  
эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ.  
Тел./факс: 8 (499) 193-61-85 (служебн.).  
E-mail: stan63@inbox.ru

**Contacts:**

Stanislav N. Shpynov  
123098, Russian Federation, Moscow, N.F. Gamaleya str., 18,  
N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology.  
Phone/fax: +7 (499) 193-61-85 (office).  
E-mail: stan63@inbox.ru

**Библиографическое описание:**

Шпынов С.Н. «*Candidatus Midichloria mitochondrii*» — новый представитель порядка *Rickettsiales*, эндосимбионт клещей *Ixodes ricinus* // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 4. С. 315–324. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-315-324

**Citation:**

Shpynov S.N. «*Candidatus Midichloria mitochondrii*»: a new member of order *Rickettsiales*, endosymbiont of *Ixodes ricinus* tick // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 315–324. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-315-324

## «*Candidatus Midichloria mitochondrii*»: A NEW MEMBER OF ORDER *Rickettsiales*, ENDOSYMBIONT OF *Ixodes ricinus* TICK

Shpynov S.N.

N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** «*Candidatus Midichloria mitochondrii*» is the sheep tick *Ixodes ricinus* endosymbiont. This unique bacteria can occupy and persist within the mitochondria of animals. *I. ricinus* is an important vector of human pathogens in natural focal of infections. «*Candidatus M. mitochondrii*» found in the intermembrane space of mitochondria and in the cytoplasm of ovarian cells in 100% females of *I. ricinus*. The bacteria contain flagella in the salivary glands of ticks. «*Candidatus M. mitochondrii*» has two groups of unique genes for the members of the order *Rickettsiales* (cbb3 cytochrome oxidase and flagellin), which allows it to play an important role in embryogenesis of the *I. ricinus* ticks and cause seroconversion in 58% of patients after ticks bloodsucking. This bacterium formed MALOs group (midichloria and like organisms) with genetically closely related organisms which demonstrated a association with a wide range of host from arthropods to ciliates, amoebae, sponges, fish and various animals and humans. Now there is no data about replication the «*Candidatus M. mitochondrii*» in humans and pathogenicity of this microorganism. Although a high percentage of seropositive samples obtained from patients after bloodsucking of *I. ricinus* in anamnesis, this bacterium cannot yet be regarded as responsible for the pathology as known human pathogenic from order *Rickettsiales* (*Rickettsia*, *Anaplasma* and *Ehrlichia* spp.). Needed to reconsider the attitude to an immune response to the saliva of *I. ricinus*, taking into account the potential impact of «*Candidatus M. mitochondrii*». It is considered highly possible role of this bacterium in the immune response and immunomodulation in humans with bloodsucking of *I. ricinus* in anamnesis. DNA of «*Candidatus M. mitochondrii*» was the first time detected in *I. ricinus* ticks from European part of Russia.

**Key words:** «*Candidatus Midichloria mitochondrii*», endosymbiont, MALOs (midichloria and like organisms), order *Rickettsiales*, ticks, *Ixodes ricinus*, mitochondria.

## Введение

Применение молекулярно-биологических методов в последние десятилетия привело к описанию новых видов риккетсий, включая патогенные для человека виды [27], а также некультивируемых в лабораторных условиях микроорганизмов из порядка *Rickettsiales* [6, 14, 15, 22, 39, 44], которые в соответствии с рекомендациями ICSB (International Committee of Systematic Bacteriology) были классифицированы как «*Candidatus sp.*» [24]. Эндосимбионт иксодовых клещей *Ixodes ricinus* «*Candidatus Midichloria mitochondrii*» требует особого внимания со стороны исследователей, так как является единственной из известных в настоящее время бактерий, которая была обнаружена внутри митохондрий животных [4, 34, 36]. Несмотря на высокий процент (58%) серопозитивных проб с ее рекомбинантным антигеном у лиц с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе, этот микроорганизм пока нельзя рассматривать ответственным за патологию человека по примеру известных патогенных представителей порядка *Rickettsiales* (риккетсии, анаплазмы и эрлихии). Но возможно потребуются пересмотреть отношение к иммунному ответу к слюне *I. ricinus* с учетом потенциального воздействия «*Candidatus M. mitochondrii*».

Цель обзора привлечь внимание исследователей и практикующих врачей (инфекционистов и других специалистов) к «*Candidatus M. mitochondrii*» для изучения ее распространения на территории Российской Федерации и возможной роли в патологии человека.

## История изучения

Первая информация о наличии риккетсиоподобных микроорганизмов в ооплазме и митохондриях развивающихся ооцитов в яичниках самок иксодовых клещей *I. ricinus* (Linnaeus, 1758) была получена при ультраструктурном изучении возбудителя клещевой лихорадки (tick-borne fever) [16].

Международной группой исследователей из лаборатории Средиземноморского университета (Марсель, Франция), возглавляемой профессором Д. Раулем, были проведены исследования клещей рода *Ixodes*, снятых с пациентов без симптомов какого-либо заболевания, в провинции Беллуно на севере Италии в период 1998–2001 гг. Помимо ДНК риккетсий, боррелий, эрлихий и анаплазм в клещах *I. ricinus* впервые был сиквенирован фрагмент гена 16S рРНК (1389 п.о.) некультивируемого микроорганизма, отнесенного к порядку *Rickettsiales* — *Rickettsiales bacterium It86*

(GenBank number AF525482) [35]. Впоследствии на основании результатов филогенетического анализа генов 16S рРНК и *gyrB*, результатов электронно-микроскопических исследований и других данных эта бактерия была описана под названием «*Candidatus* M. mitochondrii» [4, 34, 36].

Цикл научных работ, выполненных исследователями из разных стран в последующее десятилетие, позволил описать генотипические и фенотипические характеристики «*Candidatus* M. mitochondrii», что представлено в обзоре.

## Классификация и номенклатура

В соответствии с руководящими принципами ICSB, бактерии было присвоено название «*Candidatus* M. mitochondrii» в связи с тем, что некультивируемые микроорганизмы могут быть классифицированы только как кандидаты в новый вид [24]. Родовое название *Midichloria* произошло от наименования микроскопических симбионтов клеток живых существ — «midichlorians» из фантастического фильма «Звездные Войны» Джорджа Лукаса, образованного от слияния двух терминов: «mitochondrion» и «chloroplast» [36]. Видовое название «mitochondrii» связано с уникальным внутримитохондриальным обитанием микроорганизма.

На основании результатов изучения последовательностей гена 16S рРНК филогенетическая позиция «*Candidatus* M. mitochondrii» была установлена в порядке *Rickettsiales* класса *Alphaproteobacteria* типа *Proteobacteria* [36]. Бактерии группы MALOs (midichloria and like organisms), филогенетически близкие с «*Candidatus* M. mitochondrii», продемонстрировали связь с широким кругом хозяев: от членистоногих (клещи, блохи, клопы и жуки) до инфузорий, амёб, губок, рыб и различных животных, включая человека [1, 6, 10, 17, 19, 21, 23, 44]. При изучении последовательностей гена 16S рРНК группа MALOs образовала монофилетическую группу, структурированную на отдельные подгруппы (клады), которые могут представлять новые рода, и заняла позицию на уровне описанных семейств из порядка *Rickettsiales*, что привело к предложению выделить новое семейство — «*Candidatus* Midichloriaceae» [23]. Геноварианты, штаммы и близкородственные «*Candidatus* M. mitochondrii» микроорганизмы выявлены в иксодовых клещах на разных континентах [5, 9, 45].

В настоящее время в семействе «*Candidatus* Midichloriaceae» выделено несколько родов «*Candidatus* Midichloria», «*Candidatus* Lariskella»,

«*Candidatus* Anadelfobacter», «*Candidatus* Defluviella» и недавно описанный вид «*Candidatus* Fokinia solitaria», претендующий на статус рода [42].

## Морфология, внутриклеточная локализация и ультраструктура

С помощью электронной микроскопии установлено, что «*Candidatus* M. mitochondrii» — бактерия овальной или кокковидной формы размером 0,45 мкм в диаметре и 1,2 мкм в длину [4]. Это единственный представитель порядка *Rickettsiales*, имеющий жгутик [20].

«*Candidatus* M. mitochondrii» выявлена в мембранном пространстве митохондрий и в цитоплазме овариальных клеток (ооцитах) у 100% самок *I. ricinus* [4, 34, 36]. При исследовании самцов *I. ricinus* данный микроорганизм выявлен в 44% случаев. Бактерии отсутствовали в митохондриях ооцитов самок *I. holocyclus* при исследовании в электронном микроскопе [5].

При детальном рассмотрении ооцитов в яичнике половозрелых самок *I. ricinus* с помощью электронной микроскопии, «*Candidatus* M. mitochondrii» может находиться как в цитоплазме клеток-хозяина, так и внутри митохондрий [4]. При локализации в цитоплазме с «*Candidatus* M. mitochondrii» окружены тремя мембранами: наружной, представленной мембраной клетки хозяина, и двумя внутренними, типичными для грамтрицательных бактерий. Внутри митохондрий бактерии окружены митохондриальным матриксом, содержащим рибосомы, нити ДНК и дыхательные ферменты.

«*Candidatus* M. mitochondrii» выявлена с помощью FISH-детекции в активно функционирующих митохондриях *I. ricinus*, в отмерших органеллах и в митохондриях, функции которых ингибированы [8]. Количество «*Candidatus* M. mitochondrii» в митохондриях варьирует от 1 до 20 клеток и более [34]. Электронная микроскопия позволила установить факт прогрессирующей дегградации митохондриального матрикса клетки-хозяина при размножении в ней «*Candidatus* M. mitochondrii». Митохондрии, в которых содержится большое количество бактерий, выглядят раздутыми с критическим уменьшением митохондриального матрикса.

Применение антител к рекомбинантному жгутиковому флагеллину (FliD) «*Candidatus* M. mitochondrii» позволило установить наличие жгутика у бактерий при их локализации в слюнных железах *I. ricinus* [20]. Однако

электронная микроскопия не позволила обнаружить доказательств наличия жгутика у «*Candidatus M. mitochondrii*» при ее находении в клетках яичников у самок *I. ricinus*, собранных в природе [34, 46].

Применение полного протокола FISH-детекции в клещах с использованием Су3- и Су5-меченых зондов позволило точно и селективно определить локализацию эндосимбионта на всех этапах жизненного цикла клеща *I. ricinus* [8]. При нахождении «*Candidatus M. mitochondrii*» в митохондриях происходило наложение сигналов.

## Жизненный цикл

Жизненный цикл «*Candidatus M. mitochondrii*» недостаточно изучен. Бактерия выявлена у самок *I. ricinus* в двух формах: со жгутиком и без жгутика. Эндосимбионт «*Candidatus M. mitochondrii*» содержится в яичниках самок *I. ricinus*, при этом возможно принимает участие в оогенезе [38] и передается горизонтально. Жгутик при такой локализации отсутствует [34, 46]. Содержание «*Candidatus M. mitochondrii*» в митохондриях ооцитов не сказывается на нормальном развитии последних, что предполагает транс-овариальную передачу микроорганизма [34]. При выявлении «*Candidatus M. mitochondrii*» в слюнных железах *I. ricinus* бактерия содержит жгутик и, возможно, вертикально передается позвоночным хозяевам [9]. Доказательством инокулятивной передачи бактерий рода *Midichloria* во время присасывания *I. ricinus* может являться детекция 16S рРНК близкородственных «*Candidatus M. mitochondrii*» бактерий в крови позвоночных: косуль, лошадей, крупного рогатого скота, овец и собак [3, 41]. Выявление в ИФА (ELISA) антител к рекомбинантному жгутиковому флагеллину (rFliD) «*Candidatus M. mitochondrii*» в сыворотках крови человека и собак указывает на его попадание в организм млекопитающих [3, 19]. Предполагается, что жгутик может играть активную роль в инвазии «*Candidatus M. mitochondrii*» в митохондрии клетки хозяина и сбрасываться впоследствии бактерией, внедрившейся в периплазму по аналогии с *Bdellovibrio bacteiovorus* [30].

Установлено, что размножение и гибель «*Candidatus M. mitochondrii*» коррелируют с фазами кормления и голодания *I. ricinus*, сопровождающимися метаморфозы хозяина. По данным метода ПЦР в реальном времени максимальное накопление бактерий ( $7,9 \times 10^7$ )

определено в период после кормления самок и кладки яиц, что связано с продукцией метаболитов для ооцитов хозяина, минимальное ( $2,48 \times 10^4$ ) — у личинок в период линьки [37]. Применение тетрациклина в эксперименте не позволяет избавиться *I. ricinus* от симбионта «*Candidatus M. mitochondrii*», но снижает размножение бактерий [25].

Таким образом, жгутик «*Candidatus M. mitochondrii*» не обнаруживается в овариальных клетках самок *I. ricinus*, выявляется только в клетках слюнных желез, а антитела к его рекомбинантному флагеллину определяются в сыворотке крови млекопитающих. Все это дает возможность предположить существование двух форм «*Candidatus M. mitochondrii*»: симбиотической, связанной с оогенезом хозяина (горизонтальная передача), и паразитической, связанной с локализацией в слюнных железах клещей и возможной трансмиссией млекопитающим (вертикальная передача).

## Экология и географическое распространение

«*Candidatus M. mitochondrii*» экологически связана с клещом *I. ricinus*, который является важнейшим переносчиком этиологических агентов бактериальных, вирусных и протозойных зоонозных инфекций в Европе. В *I. ricinus* выявлены вирус клещевого энцефалита, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia divergens*, *B. venatorum*, *B. microti*, *Bartonella henselae*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi*, «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*», *Francisella tularensis*, *Rickettsia helvetica*, *R. monacensis* [18, 28, 31, 32].

«*Candidatus M. mitochondrii*», наряду с близкородственными ей бактериями, распространена в иксодовых клещах в Западной Европе, Северной Америке и Австралии. Выявлена генетическая гетерогенность «*Candidatus M. mitochondrii*» как среди различных видов разных родов иксодовых клещей, так и среди особей одного вида клещей. Микроорганизмы, близкородственные «*Candidatus M. mitochondrii*», генотипированы у 8 видов клещей (*Rhipicephalus turanicus*, *Rh. sanguineus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma marginatum*, *H. truncatum*, *Amblyomma tuberculatum*, *I. uriae* и *I. frontalis*) из 5 родов иксодовых клещей, за исключением представителей рода *Dermacentor*, собранных в Италии, Исландии, Испании, Израиле и США [9, 13, 26]. Три геноварианта «*Candidatus M. mitochondrii*» выявлены в клещах *A. americanum* в восточной части США [45]. Два штамма «*Candidatus M. mitochondrii*»

генотипированы в клещах *I. holocyclus*, собранных с человека, животных и растительности на восточном побережье Австралии [5].

При изучении микробиома половозрелых (♀, ♂) особей и нимф *A. americanum*, собранных в Северной Каролине (США), среди представителей порядка *Rickettsiales* были генотипированы «Candidatus Rickettsia amblyommii», «Candidatus M. mitochondrii», *Ehrlichia chaffeensis*, а также геноварианты «Candidatus Rickettsia amblyommii», «Candidatus M. mitochondrii» и *Rickettsia massiliae* [29]. Однако обильное содержание эндосимбионта «Candidatus M. mitochondrii» в членистоногом ограничивает возможность детекции патогенных микроорганизмов (*B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. duttonii*, *R. rickettsia*, *B. henselae*, *E. chaffeensis* и *A. phagocytophilum*) с использованием универсальных праймеров при изучении 16S профиля на основе полимеразной цепной реакции [11], что искажает представление о их присутствии в тканях хозяина. Эта бактерия доминировала над *A. phagocytophilum*, *Borrelia* spp. и *Rickettsia* spp. при исследовании *I. ricinus* в Норвегии [12]. «Candidatus M. mitochondrii» и *A. phagocytophilum* генотипированы в *I. frontalis*, снятом с крупного рогатого скота в Испании [26].

## Культивирование

В настоящее время «Candidatus M. mitochondrii» относится к некультивируемым (в лабораторных условиях) формам бактерий. Отсутствуют данные о ее культивировании на искусственных питательных средах, в культуре клеток, развивающихся куриных эмбрионах и в организме лабораторных животных.

Важным инструментом для моделирования фенотипических характеристик «Candidatus M. mitochondrii» как некультивируемого вида прокариот, обитающего внутри митохондрий, является биоинформационный анализ его полноразмерного генома.

## Геном и генотипические характеристики

Полноразмерный геном «Candidatus M. mitochondrii» IricVA (GenBank: RefSeq NC\_015722.1; INSDC CP002130.1) сиквенирован из тканей яичника самки *I. ricinus* (место сбора — Варез, Италия). Геном представлен одной кольцевой хромосомой размером 1183732 п.о., плазмиды отсутствуют, содержание G+C 36,6%, [38]. Геном содержит 1246 генов, кодирующих 1161 белок, и включает 3 рРНК, 35 тРНК и 46 псевдогенов (GenBank: RefSeq NC\_015722.1).

Как и у риккетсий, геном «Candidatus M. mitochondrii» имеет гены, кодирующие белки секреторной системы IV типа и Sec-независимой системы секреции белка, анкириновые белковые повторы и различные мембранные белки, что позволяет симбионту проникать в митохондрии клетки хозяина.

Важную роль в жизненном цикле «Candidatus M. mitochondrii» играют 2 группы генов, отсутствующие у других представителей порядка *Rickettsiales*: гены кодирующие *cbb<sub>3</sub>*, цитохромоксидазу и кодирующие флагеллин [38]. Наличие *cbb<sub>3</sub>*, цитохромоксидазы позволяет «Candidatus M. mitochondrii» синтезировать АТФ при концентрациях кислорода, субоптимальных для митохондрий. Предполагается, что эндосимбионт «Candidatus M. mitochondrii» служит дополнительным источником АТФ для овариальных клеток самки *I. ricinus* во время оогенеза. Передача АТФ хозяйской клетке может осуществляться с помощью АТФ/АДФ-транслоказы бактерии, белки этого семейства имеют обратимые функции, основанные на концентрации АТФ/АДФ и протонном градиенте [38].

Геном «Candidatus M. mitochondrii» содержит группу из 26 генов, которые кодируют все компоненты жгутика, включая крючок, филамент и базальное тело, чего нет в изученных геномах 20 других видов риккетсий. Отсутствуют признаки, того что флагеллярные гены являются псевдогенами или произошли с помощью горизонтального переноса генов [38]. Считается, что они находились у общего предка *Rickettsiales* и митохондрий и были утрачены при переходе от свободноживущего состояния к внутриклеточному [43].

В настоящее время результаты изучения генома «Candidatus M. mitochondrii» не позволяют получить ответ, принимает ли бактерия участие в мутуалистических или паразитических взаимоотношениях со своим хозяином — иксодовым клещом *I. ricinus*.

## Биохимические свойства

Биохимические свойства «Candidatus M. mitochondrii» смоделированы при анализе генома, который обладает относительным дефицитом генов, кодирующих пути биосинтеза аминокислот и нуклеотидов, по сравнению с родственными свободноживущими  $\alpha$ -протеобактериями. Он содержит набор генов для синтеза коэнзима А, биотина, липоевой кислоты, тетрагидрофолата, пантотената, гема, убихинона и может поставлять клеткам хозяина эти основные кофакторы [38]. Микроорганизм имеет цикл Кребса, глюконеогенез, комплекс пируватдеги-

дрогеназы и почти все ферменты, необходимые для гликолиза. «*Candidatus M. mitochondrii*» способна синтезировать АТФ и АТФ/АДФ-транслоказу, что дает возможность осуществлять импорт/экспорт АТФ по отношению к клетке-хозяину.

## Антигенные свойства

В свете имеющихся на сегодняшний день знаний о «*Candidatus M. mitochondrii*», бактерии следует рассматривать как пакет антигенов, инокулированных в организм человека и животных, после присасывания клеща *I. ricinus* [3].

«*Candidatus M. mitochondrii*» имеет гены, кодирующие поверхностные белки: фактор сборки белка наружной мембраны BamA, предшественник поверхностного антигена; компоненты жгутика, включая крючок, филамент и базальное тело [38]. Кроме того, имеется ген, кодирующий периплазматический протеин LptC, связанный с липополисахаридом (LPS).

Таким образом, в геноме «*Candidatus M. mitochondrii*» присутствуют гены, кодирующие белки, присущие трем основным видам бактериальных антигенов (соматические, жгутиковые и поверхностные).

## Эпизоотологические и эпидемиологические особенности

В настоящее время отсутствует прямое подтверждение эпизоотологических и эпидемиологических проявлений связанных с «*Candidatus M. mitochondrii*».

Вертикальная передача «*Candidatus M. mitochondrii*» позвоночным хозяевам может быть обусловлена локализацией бактерии в слюнных железах *I. ricinus*, где она присутствует в форме, содержащей жгутик [9, 19, 20].

Возможность трансмиссии клещами представителей рода «*Candidatus Midichloria*» млекопитающим продемонстрирована секвенированием семи вариантов последовательности гена 16S рНК в 26 (16,66%) пробах при исследовании в ПЦР образцов цельной крови 156 животных (лошадей, коров, овец и собак) с высоким риском присасывания клещей из различных регионов Италии [3]. Связь этих генотипов с иксодовыми клещами подтверждена их кластеризацией в филогенетическом древе с последовательностями изолятов, ранее генотипированных в иксодовых клещах. В образцах крови 50 животных контрольной группы (коровы и собаки) с низким риском присасывания клещей положительные ПЦР-пробы

отсутствовали. Последовательность гена 16S «*Candidatus M. mitochondrii*» была амплифицирована при скрининге бактерий, передающихся клещами, в крови косуль в Дании [41].

Инокуляция антигена «*Candidatus M. mitochondrii*» животным во время кровопитания *I. ricinus* подтверждена выявлением антител к рекомбинантному жгутиковому флагеллину FliD в ELISA в 26,6% случаев при исследовании 218 собак из 16 мест содержания на юге Италии с высоким риском нападения *I. ricinus* [3].

Антитела к рекомбинантному жгутиковому флагеллину rFliD «*Candidatus M. mitochondrii*» были выявлены в ELISA в сыворотках крови у 58% людей с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе, и в 1–2% у интактных доноров [19].

## Лабораторная диагностика

В настоящее время отсутствуют коммерческие тест-системы для выявления ДНК «*Candidatus M. mitochondrii*» в объектах внешней среды (иксодовые клещи), в образцах клинического материала от человека и в пробах материала от животных. Отсутствуют сертифицированные серологические тест-системы для выявления антител в сыворотках пациентов с присасыванием иксодовых клещей (*I. ricinus*) в анамнезе.

При выполнении исследований целесообразно провести генотипирование (ПЦР-сиквенирование) «*Candidatus M. mitochondrii*» в иксодовых клещах, крови животных и человека в соответствии с дизайном праймеров и протоколами, рекомендованными исследователями [35, 36, 37, 41].

Применение рекомбинантного жгутикового флагеллина в качестве антигена позволило выявить в ELISA антитела к «*Candidatus M. mitochondrii*» у пациентов с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе и интактных [19]. Специфичность рекомбинантного антигена «*Candidatus M. mitochondrii*» была обусловлена отсутствием жгутика у других представителей порядка *Rickettsiales* [7]. Для исключения возможности перекрестных реакций с антигеном боррелий 80 сывороток были исследованы в Western-blot на наличие антител к *Borrelia burgdorferi* s.l. В 32 сыворотках (40%) были выявлены антитела к боррелиям, при этом 11 сывороток (13,75%) также содержали антитела к rFliD «*Candidatus M. mitochondrii*». Все 36 сывороток (45%), положительных на наличие антител к «*Candidatus M. mitochondrii*», не содержали специфических антител к *B. burgdorferi* s.l. Только в 21 сыворотке (26,25%) были выявлены антитела исключительно к *B. burgdorferi* s.l.

12 сывороток (15%) были отрицательными на антитела в отношении обеих бактерий. В сыворотках 47 пациентов (58%) были выявлены антитела к «*Candidatus M. mitochondrii*». Таким образом, большая часть сывороток пациентов, содержащих антитела к «*Candidatus M. mitochondrii*», не имела антител к *B. burgdorferi* s.l.

Диагностическая ценность этой тест-системы может быть ограничена тем, что жгутик не всегда является атрибутом микроорганизма. Необходима разработка тест-систем, основанных на выявлении антител к поверхностным белкам (антигенам) бактерии, в первую очередь, к белку наружной мембраны *VamA*, имеющего важное значение при взаимодействии с рецепторами клетки хозяина и мембранами митохондрий.

### Выявление «*Candidatus M. mitochondrii*» в клещах *Ixodes ricinus* в Российской Федерации

Весной 2015 года голодные имаго иксодовых клещей *I. ricinus* (11♂; 3♀) и *I. persulcatus* (10♂; 10♀) были собраны с растительности на территории Воронежской (51° 92'N; 39° 69'E) и Иркутской областей (51° 53'40"N; 104° 50'21"E) соответственно. Клещи были идентифицированы на основании морфологических признаков [2]. Фрагменты ДНК, амплифицированные в ПЦР с праймерами к уникальной последовательности фрагмента гена *gyrB* «*Candidatus M. mitochondrii*» [37] и специфичными для фрагмента гена цитратсинтазы (*gltA*) известных видов риккетсий CS409d — RP1258n [33], были сиквенированы на генетическом анализаторе ABI PRISM 3130.

Во всех трех пробах самок *I. ricinus* был амплифицирован фрагмент гена *gyrB* длиной 105 п.о. имеющий 100% гомологии с нуклеотидной последовательностью генома «*Candidatus M. mitochondrii*» IricVA (GenBank № CP002130) по позициям нуклеотидов с 1030995 по 1031099. При этом все пробы *I. ricinus* были отрицательны в ПЦР с праймерами к фрагменту гена *gltA* риккетсий. При исследовании *I. persulcatus* ни в одной из проб не была выявлена ДНК «*Candidatus M. mitochondrii*». При этом был сиквенирован фрагмент ДНК, имеющий 100% гомологии с геном цитратсинтазы «*Candidatus Rickettsia tarasevichiae*» (GenBank № AF503167). Различия в результатах, полученных при генотипировании двух представителей порядка *Rickettsiales* в клещах *I. ricinus* и *I. persulcatus*,

согласуются с данными о различном происхождении этих близкородственных видов клещей, связанном с геологическими событиями, приведшими к формированию континентов в меловой период [40].

### Заключение

В настоящее время не установлена возможность репликации «*Candidatus M. mitochondrii*» в организме человека и патогенность этого микроорганизма. Несмотря на высокий процент серопозитивных проб, полученных от лиц с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе, эту бактерию пока нельзя рассматривать как ответственную за патологию человека по примеру известных патогенных представителей порядка *Rickettsiales*.

Требуется пересмотреть отношение к иммунному ответу к слюне *I. ricinus* с учетом возможного воздействия «*Candidatus M. mitochondrii*». Следует рассматривать высокую возможность роли этой бактерии в иммунном ответе и иммуномодуляции у человека с присасыванием *I. ricinus* в анамнезе. Это предположение ограничивает подобное воздействие слюны клеща на организм человека, имеющей важное значение в процессе присасывания и трансмиссии микроорганизма. Другим аспектом реализации трансмиссии «*Candidatus M. mitochondrii*» и/или ее антигенов после присасывания *I. ricinus* может стать развитие патологического состояния, что также требует тщательного изучения.

Наличие любого из проявлений, обусловленных воздействием «*Candidatus M. mitochondrii*» и/или ее антигенов на иммунную систему человека, индикатором которых служит сероконверсия, и связанных с переносчиком *I. ricinus*, предполагает наличие феномена природной очаговости.

### Благодарности

Автор выражает признательность руководителю лаборатории экологии переносчиков ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ д.б.н., профессору Э.И. Коренбергу из лаборатории, которого были получены образцы суммарной ДНК иксодовых клещей, руководителю лаборатории биотехнологии, к.б.н. С.В. Альховскому и научному сотруднику лаборатории экологии риккетсий, к.м.н. Л.В. Ахмадишиной за проведение молекулярно-биологических исследований.

## Список литературы/References

1. Медяников О.Ю., Иванов Л.И., Nishikawa M., Saito R., Сидельников И.Н., Здановская Н.И., Мокрецова Е.В., Тарасевич И.В., Suzuki H. Микроорганизм «Montezuma» из порядка Rickettsiales: потенциальный возбудитель клещевого трансмиссивного заболевания на Дальнем Востоке России // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2004. № 1. С. 7–13. [Mediannikov O., Ivanov L.I., Nishikawa M., Saito R., Sidel'nikov I.N., Zdanovskaia N.I., Mokretsova E.V., Tarasevich I.V., Suzuki H. Microorganism "Montezuma" of the order Rickettsiales: the potential causative agent of tick-borne disease in the Far East of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2004, no. 1, pp. 7–13. (In Russ.)]
2. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae. Л.: Наука, 1977. 396 с. [Filippova N.A. Iksodovye kleshhi podsemejstva Ixodinae [Ixodidae, Ticks of Subfamily of Ixodinae]. *Leningrad: Nauka*, 1977. 396 p.]
3. Bazzocchi C., Mariconti M., Sasser D., Rinaldi L., Martin E., Cringoli G., Urbanelli S., Genchi C., Bandi C., Epis S. Molecular and serological evidence for the circulation of the tick symbiont Midichloria (Rickettsiales: Midichloriaceae) in different mammalian species. *Parasites & Vectors*, 2013, no. 6, pp. 350–356. doi: 10.1186/1756-3305-6-350
4. Beninati T., Lo N., Sacchi L., Genchi C., Noda H., Bandi C. A novel alpha-Proteobacterium resides in the mitochondria of ovarian cells of the tick *Ixodes ricinus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, no. 70, pp. 2596–2602. doi: 10.1128/AEM.70.5.2596-2602.2004
5. Beninati T., Riegler M., Vilcins I.M., Sacchi L., McFadyen R., Krockenberger M., Bandi C., O'Neill S.L., Lo N. Absence of the symbiont *Candidatus Midichloria mitochondrii* in the mitochondria of the tick *Ixodes holocyclus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, no. 299, pp. 241–247. doi: 10.1186/s13071-015-0958-3
6. Boscaro V., Petroni G., Ristori A., Verni F., Vannini C. "Candidatus Defluviella procrastinata" and "Candidatus Cyrtobacter zanobii", two novel ciliate endosymbionts belonging to the "Midichloria clade". *Microb. Ecol.*, 2013, no. 65, pp. 302–310. doi: 10.1007/s00248-012-0170-3
7. Dumler J., Walker D. Order II. Rickettsiales Gieszczykiewicz 1939, 25<sup>AL</sup> emend. In: Bergey's manual of systematic bacteriology. 2<sup>nd</sup> ed. Ed. Garrity G., Brenner D., Krieg N., Staley J. *New York, Springer-Verlag*, 2005, pp. 96–160.
8. Epis S., Mandrioli M., Genchi M., Montagna M., Sacchi L., Pistone D., Sasser D. Localization of the bacterial symbiont *Candidatus Midichloria mitochondrii* within the hard tick *Ixodes ricinus* by whole-mount FISH staining. *Ticks Tick-Borne Dis.*, 2013, no. 4, pp. 39–45. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.06.005
9. Epis S., Sasser D., Beninati T., Lo N., Beati L., Piesman J., Rinaldi L., McCoy K.D., Torina A., Sacchi L., Clementi E., Genchi M., Magnino S., Bandi C. Midichloria mitochondrii is widespread in hard ticks (Ixodidae) and resides in the mitochondria of phylogenetically diverse species. *Parasitology*, 2008, no. 135, pp. 485–494. doi: 10.1017/S0031182007004052
10. Fraune S., Bosch T.C. Long-term maintenance of species-specific bacterial microbiota in the basal metazoan Hydra. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, no. 104, pp. 13146–13151. doi: 10.1073/pnas.0703375104
11. Gofton A.W., Oskam C.L., Lo N., Beninati T., Wei H., McCarl V., Murray D.C., Papparini A., Greay T.L., Holmes A.J., Bunce M., Ryan U., Irwin P. Inhibition of the endosymbiont "Candidatus Midichloria mitochondrii" during 16S rRNA gene profiling reveals potential pathogens in *Ixodes* ticks from Australia. *Parasit Vectors*, 2015, no. 25, pp. 345–352. doi: 10.1186/s13071-015-0958-3
12. Granquist E.G., Kristiansson M., Lindgren P.E., Matussek A., Nødtvedt A., Okstad W., Stuen S. Evaluation of microbial communities and symbionts in *Ixodes ricinus* and ungulate hosts (*Cervus elaphus* and *Ovis aries*) from shared habitats on the west coast of Norway. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2014, no. 5 (6), pp. 780–784. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.05.005
13. Harrus S., Perlman-Avrahami A., Mumcuoglu K.Y., Morick D., Eyal O., Baneth G. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma platys*, *Candidatus Midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2011, no. 17 (3), pp. 459–463. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03316.x
14. Hess S., Suthaus A., Melkonian M. "Candidatus Finniella" (Rickettsiales, Alphaproteobacteria), Novel Endosymbionts of Viridiraptorid Amoeboflagellates (Cercozoa, Rhizaria). *Appl. Environ. Microbiol.*, 2015, vol. 82, no. 2, pp. 659–670. doi: 10.1128/AEM.02680-15
15. Jiang J., Maina A.N., Knobel D.L., Cleaveland S., Laudisoit A., Wamburu K., Ogola E., Parola P., Breiman R.F., Njenga M.K., Richards A.L. Molecular detection of *Rickettsia felis* and *Candidatus Rickettsia asemboensis* in fleas from human habitats, Asembo, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2013, no. 13 (8), pp. 550–558. doi:10.1089/vbz.2012.1123
16. Lewis D. The detection of rickettsia-like microorganisms within the ovaries of female *Ixodes ricinus* ticks. *Z. Parasitenkd.*, 1979, no. 59 (3), pp. 295–298.
17. Lloyd S.J., LaPatra S.E., Snekvik K.R., St-Hilaire S., Cain K.D., Call D.R. Strawberry disease lesions in rainbow trout from southern Idaho are associated with DNA from a Rickettsia-like organism. *Dis. Aquat. Organ.*, 2008, no. 82, pp. 111–118. doi: 10.3354/dao01969
18. Lommano E., Bertaiola L., Dupasquier C., Gern L. Infections and coinfections of questing *Ixodes ricinus* ticks by emerging zoonotic pathogens in Western Switzerland. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, no. 78 (13), pp. 4606–4612. doi: 10.1128/AEM.07961-11
19. Mariconti M., Epis S., Gaibani P., Dalla Valle C., Sasser D., Tomao P., Fabbi M., Castelli F., Marone P., Sambri V., Bazzocchi C., Bandi C. Humans parasitized by the hard tick *Ixodes ricinus* are seropositive to *Midichloria mitochondrii*: is *Midichloria* a novel pathogen, or just a marker of tick bite? *Pathog. Glob. Health*, 2012, vol. 106, no. 7, pp. 391–396. doi: 10.1179/204773212Y.0000000050
20. Mariconti M., Epis S., Sacchi L., Biggiogera M., Sasser D., Genchi M., Alberti E., Montagna M., Bandi C., Bazzocchi C. A study on the presence of flagella in the order Rickettsiales: the case of "Candidatus *Midichloria mitochondrii*". *Microbiology*, 2012, vol. 158, iss. 7, pp. 1677–1683. doi: 10.1099/mic.0.057174-0

21. Matsuura Y., Kikuchi Y., Meng X.Y., Koga R., Fukatsu T. Novel clade of alphaproteobacterial endosymbionts associated with stinkbugs and other arthropods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, no. 78, pp. 4149–4156. doi: 10.1128/AEM.00673-12
22. Mediannikov O., Aubadie-Ladrix M., Raoult D. Candidatus “Rickettsia senegalensis” in cat fleas in Senegal. *New Microbes New Infect.*, 2015, no. 3, pp. 24–28. doi: 10.1016/j.nmni.2014.10.005
23. Montagna M., Sasser D., Epis S., Bazzocchi C., Vannini C., Lo N., Sacchi L., Fukatsu T., Petroni G., Bandi C. “Candidatus Midichloriaceae” fam. nov. (Rickettsiales), an ecologically widespread clade of intracellular Alphaproteobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013, no. 79, pp. 3241–3248. doi: 10.1128/AEM.03971-12
24. Murray R.G., Stackebrandt E. Taxonomic note: implementation of the provisional status Candidatus for incompletely described procaryotes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1995, no. 45 (1), pp. 186–187.
25. Ninio C., Plantard O., Serra V., Pollera C., Ferrari N., Cafiso A., Sasser D., Bazzocchi C. Antibiotic treatment of the hard tick *Ixodes ricinus*: influence on *Midichloria mitochondrii* load following blood meal. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2015, no. 6 (5), pp. 653–657. doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.05.011
26. Palomar A.M., Portillo A., Santibáñez P., Mazuelas D., Roncero L., García-Álvarez L., Santibáñez S., Gutiérrez Ó., Oteo J.A. Detection of tick-borne *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma centrale* in Spain. *Med. Vet. Entomol.*, 2015, no. 29(3), pp. 349–353. doi: 10.1111/mve.12124
27. Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2013, no. 26 (4), pp. 657–702. doi: 10.1128/CMR.00032-13
28. Paulsen K.M., Pedersen B.N., Soleng A., Okbaldet Y.B., Pettersson J.H., Dudman S.G., Ottesen P., Vik I.S., Vainio K., Andreassen Å. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks from three islands in north-western Norway. *APMIS*, 2015, no. 123 (9), pp. 759–764. doi: 10.1111/apm.12412
29. Ponnusamy L., Gonzalez A., Van Treuren W., Weiss S., Parobek C.M., Juliano J.J., Knight R., Roe R.M., Apperson C.S., Meshnick S.R. Diversity of Rickettsiales in the microbiome of the lone star tick, *Amblyomma americanum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2014, no. 80 (1), pp. 354–359. doi: 10.1128/AEM.02987-13
30. Rendulic S., Jagtap P., Rosinus A., Eppinger M., Baar C., Lanz C., Keller H., Lambert C., Evans K.J., Goesmann A., Meyer F., Sockett R.E., Schuster S.C. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science*, 2004, vol. 303, iss. 5658, pp. 689–692. doi: 10.1126/science.1093027
31. Reye A.L., Stegny V., Mishaeva N.P., Velhin S., Hübschen J.M., Ignatyev G., Muller C.P. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus. *PLoS One*, 2013, no. 8 (1): e54476. doi: 10.1371/journal.pone.0054476.
32. Rizzoli A., Silaghi C., Obiegala A., Rudolf I., Hubálek Z., Földvári G., Plantard O., Vayssier-Taussat M., Bonnet S., Spitalská E., Kazimírová M. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front. Public Health.*, 2014, vol. 2:251. doi: 10.3389/fpubh.2014.00251
33. Roux V., Rydkina E., Ereemeeva M., Raoult D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1997, no. 47 (2), pp. 252–261. doi: 10.1099/00207713-47-2-252
34. Sacchi L., Bigliardi E., Corona S., Beninati T., Lo N., Franceschi A. A symbiont of the tick *Ixodes ricinus* invades and consumes mitochondria in a mode similar to that of the parasitic bacterium *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Tissue Cell*, 2004, no. 36, pp. 43–53. doi: 10.1016/j.tice.2003.08.004
35. Sanogo Y.O., Parola P., Shpynov S., Camicas J.L., Brouqui P., Caruso G., Raoult D. Genetic diversity of bacterial agents detected in ticks removed from asymptomatic patients in Northeastern Italy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2003, no. 990, pp. 182–190. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07360.x
36. Sasser D., Beninati T., Bandi C., Bouman E.A., Sacchi L., Fabbi M., Lo N. “Candidatus *Midichloria mitochondrii*”, an endosymbiont of the tick *Ixodes ricinus* with a unique intramitochondrial lifestyle. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2006, no. 56, pp. 2535–2540. doi: 10.1099/ij.s.0.64386-0
37. Sasser D., Lo N., Bouman E.A., Epis S., Mortarino M., Bandi C. “Candidatus *Midichloria*” endosymbionts bloom after the blood meal of the host, the hard tick *Ixodes ricinus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, no. 74, pp. 6138–6140. doi: 10.1128/AEM.00248-08
38. Sasser D., Lo N., Epis S., D’Auria G., Montagna M., Comandatore F., Horner D., Pereto J., Luciano A.M., Franciosi F., Ferri E., Crotti E., Bazzocchi C., Daffonchio D., Sacchi L., Moya A., Latorre A., Bandi C. Phylogenomic evidence for the presence of a flagellum and *cbb(3)* oxidase in the free-living mitochondrial ancestor. *Mol. Biol. Evol.*, 2011, no. 28, pp. 3285–3296. doi: 10.1093/molbev/msr159
39. Schrallhammer M., Ferrantini F., Vannini C., Galati S., Schweikert M., Görtz H.D., Verni F., Petroni G. “Candidatus *Megaira polyxenophila*” gen. nov., sp. nov.: considerations on evolutionary history, host range and shift of early divergent rickettsiae. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 8:e72581. doi: 10.1371/journal.pone.0072
40. Shpynov S. *Ixodes persulcatus*, a major vector of Alphaproteobacteria in Russia. *Ticks Tick-borne Dis.*, 2012, no. 3, pp. 304–306. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.029
41. Skarphedinsson S., Jensen P.M., Kristiansen K. Survey of tickborne infections in Denmark. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, no. 11, pp. 1055–1061. doi: 10.3201/eid1107.041265
42. Szokoli F., Sabaneyeva E., Castelli M., Krenek S., Schrallhammer M., Soares C.A., Da Silva-Neto I.D., Berendonk T.U., Petroni G. “Candidatus *Fokinia solitaria*”, a novel “stand-alone” symbiotic lineage of Midichloriaceae (Rickettsiales). *PLoS One*, 2016, no. 11:e0145743. doi: 10.1371/journal.pone.0145743

43. Toft C., Fares M.A. The evolution of the flagellar assembly pathway in endosymbiotic bacterial genomes. *Mol. Biol. Evol.*, 2008, no. 25, pp. 2069–2076. doi: 10.1093/molbev/msn153
44. Vannini C., Ferrantini F., Schleifer K.H., Ludwig W., Verni F., Petroni G. “Candidatus anadelfobacter veles” and “Candidatus Cyrtobacter comes” two new rickettsiales species hosted by the protist ciliate *Euplotes harpa* (Ciliophora, Spirotrichea). *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, no. 76, pp. 4047–4054. doi: 10.1128/AEM.03105-09
45. Williams-Newkirk A.J., Rowe L.A., Mixson-Hayden T.R., Gregory A.D. Presence, genetic variability, and potential significance of “Candidatus Midichloria mitochondrii” in the lone star tick *Amblyomma americanum*. *Exp. Appl. Acarol.*, 2012, no. 58, pp. 291–300. doi: 10.1007/s10493-012-9582-5
46. Zhu Z., Aeschlimann A., Gern L. Rickettsia-like microorganisms in the ovarian primordia of molting *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1992, no. 67, pp. 99–110.

---

**Автор:**

**Шпынов С.Н.**, д.м.н., руководитель лаборатории экологии риккетсий ФГБУ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия.

**Author:**

**Shpynov S.N.**, PhD, MD (Medicine), Head of Laboratory of Ecology of Rickettsiae, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 21.06.2016  
Отправлена на доработку 08.07.2016  
Принята к печати 21.07.2016

---

Received 21.06.2016  
Revision received 08.07.2016  
Accepted 21.07.2016