

А.И. Соловьев¹, Е.И. Бондаренко², Д.И. Тимофеев²,
А.И. Ракин¹, В.Ю. Кравцов¹

Коллекция клещей академика Е.Н. Павловского и современные перспективы молекулярно-генетических исследований

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Акционерное общество «Вектор-Бест», Новосибирск

Резюме. Академик Евгений Никанорович Павловский – основоположник учения о природной очаговости болезней. В результате его многочисленных экспедиций в Среднюю и Центральную Азию (1934–1955 гг.) была собрана уникальная коллекция Аргасовых клещей (*Argasidae*). Часть коллекции формировалась в период Великой Отечественной войны (1941–1943 гг.) на территории Ирана в зоне Трансиранского маршрута (Персидский коридор) – одного из стратегических направлений доставки Советскому Союзу американской и английской военной помощи. В настоящее время богатейшая коллекция клещей хранится на кафедре биологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, бессменным руководителем которой на протяжении более 40 лет являлся Е.Н. Павловский. Коллекция насчитывает более 15 тыс. экземпляров членистоногих. Среди них *Ornithodoros papillipes*, *Ornithodoros tartakovsky*, *Ornithodoros lahorensis*, *Ornithodoros verrucosus*, *Argas persicus*, а также некоторые другие виды переносчиков-возбудителей инфекционных заболеваний человека. Историческая коллекция клещей рассматривается как уникальный ресурс для изучения инфекционных патогенов и их переносчиков с помощью молекулярно-генетических методик. Исследована сохранность генетического материала в музейных образцах клещей с целью определения возможности выявления в них дезоксирибонуклеотидных маркеров возбудителей клещевых инфекций (инфекций, передаваемых клещами). При обследовании 48 экземпляров клещей генетические маркеры инфекционных патогенов были выявлены в 10 образцах. Из них 8 проб дали положительные результаты на наличие специфических дезоксирибонуклеотидных маркеров возбудителей клещевых риккетсиозов (*Rickettsia species*). В одной из проб обнаружена дезоксирибонуклеиновая кислота бактерий, вызывающих болезнь Лайма (группа *Borrelia burgdorferi* s. l.). В другом случае выявлен фрагмент гена, специфичный для возбудителя Ку-лихорадки (*Coxiella burnetii*). Полученные данные указывают на перспективы изучения исторической коллекции клещей академика Е.Н. Павловского и служат вкладом в развитие современного научного направления – музеимики членистоногих. Уникальный биологический материал может быть использован для изучения структуры и эволюции генома клещей сем. *Argasidae*, а также этиологии и распространения передаваемых ими возбудителей бактериальных инфекций.

Ключевые слова: академик Е.Н. Павловский, клещевая коллекция, Аргасовые клещи, клещевые инфекции, полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, количественная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, Средняя Азия, Иран, «Персидский коридор», ленд-лиз.

Введение. Клещи – широко распространенные эктопаразиты, питающиеся кровью животных и человека. Они передают больше видов патогенов, чем любая другая группа членистоногих, и по своему экономическому значению уступают только комарам [5, 12, 18]. Даже после утраты жизнеспособности клещи служат универсальным резервуаром для длительного сохранения генетического материала инфекционных агентов [12, 18, 24, 25]. Первые частные коллекции клещей появились в XIX в. и использовались для изучения морфологии и систематики членистоногих отдельных географических регионов [18]. Для консервации образцов наиболее широко применялась фиксация спиритом [18, 22, 23]. Современные коллекции клещей расцениваются как стратегические научные ресурсы и имеют статус национального достояния [18, 22]. Так, Национальная коллекция клещей Соединенных Штатов Америки (США) (The U.S. National Tick Collection, USNTC) насчитывает более 1 млн со-

бранных со всего мира образцов и используется для широкого круга исследований, в том числе с целью изучения эволюции генома переносчиков и инфекционных патогенов [18].

Коллекция академика Е.Н. Павловского, хранящаяся в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, представляет уникальное собрание Аргасовых клещей, распространенных на территории Закавказья, Средней и Центральной Азии. Коллекция Е.Н. Павловского формировалась в период 1934–1955 гг. как хранилище живых объектов. Образцы не консервировались и не обрабатывались фиксаторами. Собранные клещи использовались в биологических экспериментах с целью изучения риккетсиозов и других актуальных инфекций [1, 9, 10, 12]. Жизнеспособность членистоногих поддерживалась за счет их кормления на лабораторных животных [12, 13]. После достижения основных научных целей коллекция преимущественно использовалась в учебной работе. Регулярные корм-

ления клещей были прекращены в конце 1960-х годов. Членистоногие паразиты утратили жизнеспособность, но продолжали храниться как коллекция живых клещей (при комнатной температуре в условиях естественной влажности). Это могло привести к потере значительного количества генетического материала – как самих членистоногих, так и возбудителей инфекционных болезней. В настоящее время имеются многочисленные данные о том, что нуклеиновые кислоты обладают хорошей устойчивостью в окружающей среде [3, 15]. Однако в литературе недостаточно сведений о сохранности наследственного материала в тканях клещей, длительно хранившихся в естественных условиях, а также о возможности выявления генетических маркеров инфекционных патогенов в нефиксированных музейных образцах. Поэтому для оценки научно-практической значимости коллекции возникла необходимость оценить ее состояние и определить пригодность биологического материала для проведения молекулярно-генетических исследований.

Цель исследования. Провести ревизию исторической коллекции клещей, оценить состояние биологического материала, определить его пригодность для молекулярно-генетических исследований.

Материалы и методы. Проведен анализ литературы, имеющей отношение к экспедициям академика Е.Н. Павловского в Среднюю и Центральную Азию. Важную часть работы составляло обобщение обширных архивных материалов кафедры биологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, включая личную переписку Е.Н. Павловского, а также воспоминания его учеников и современников. Помимо исторических материалов, в работе использованы данные современных информационных ресурсов «The Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU)», «Bristol University Tick ID», содержащих сведения о возбудителях клещевых инфекций и их переносчиках.

Состояние членистоногих оценивали по результатам визуального осмотра, с помощью микроскопии в проходящем свете (Ломо МИКМЕД 6, камера хс1313), а также посредством стереомикроскопии (Leica MZ6). Видовую идентификацию членистоногих проводили в соответствии с общепринятыми морфологическими признаками [17, 20, 21]. Данные, полученные в результате проведенной выборочной проверки, полностью совпали со сведениями о видовой принадлежности клещей, указанными в описаниях каждой партии членистоногих. Поэтому в дальнейшем о видовом составе коллекции клещей судили на основании результатов их обследования, проведенного специалистами в прежние годы.

Молекулярно-генетические исследования проводились на базе акционерного общества (АО) «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Материал для исследования получали путем дезинтеграции клещей. Предварительно каждый исследуемый экземпляр подвергался индивидуальной промывке в 300 мкл 96% этилового спирта путем встряхивания пробирок с образцами

на шейкере в течение 5 мин и последующего центрифугирования при 1000 об/мин в течение 2 мин. Спирт удалялся с помощью вакуумного отсасывателя. Осажденные фрагменты клещей промывались от остатков спирта добавлением 500 мкл физиологического раствора с последующим центрифугированием и удалением надосадочной жидкости.

Дезинтеграцию фрагментов клещей и гомогенизацию исследуемого материала проводили с помощью набора для измельчения образцов «Матрикс-К» АО «Вектор-Бест» (Россия) и гомогенизатора «MagNa Lyser» фирмы «Roche Diagnostics» (Швейцария) [14]. Выделение суммарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) осуществляли с помощью набора реагентов «РеалБест экстракция 100» АО «Вектор-Бест» (Россия). Для этого использовали по 100 мкл суспензии каждого образца, обработку материала осуществляли в соответствии с инструкцией производителя. Выявление митохондриальной ДНК (мт-ДНК) в суспензиях из тканей клещей проводили полуколичественным методом с использованием технологии полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Исследование проводили с помощью экспериментального лабораторного ПЦР-теста АО «Вектор-Бест» (Россия) [14].

Для выявления ДНК-маркеров возбудителей клещевых инфекций использовали коммерческие наборы реагентов «РеалБест ДНК *Rickettsia species*», «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi s.l.*», «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*» АО «Вектор-Бест» (Россия), а также экспериментальные разработки того же производителя для детекции генетических маркеров *Coxiella burnetii* и *Francisella tularensis* [3, 14, 15]. Амплификацию генетического материала и учет результатов реакции осуществляли с помощью амплификатора с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «CFX 96» фирмы «Bio-Rad» (США).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что историческая коллекция клещей формировалась с 1934 по 1955 г. Начало паразитологических экспедиций Е.Н. Павловского в Среднюю Азию было связано с образованием Узбекской, Туркменской и Таджикской союзных республик и необходимостью изучения краевой патологии этих территорий [6, 11]. Экспедиции проводились ежегодно, как правило, в весенний и осенний периоды (рис. 1).

Их продолжительность составляла от 2–3 недель до нескольких месяцев, что определялось характером выполняемых научно-практических задач [6, 8, 10]. В состав экспедиционных отрядов входили сотрудники Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, специалисты Зоологического института Академии наук Союза Советских Социалистических Республик и других академических институтов Ленинграда и Москвы, а также войсковые врачи и представители местных органов здравоохранения [6]. Члены экспедиции проживали среди местного населения, размещаясь в приспособленных помещениях или в палатках. Рабо-

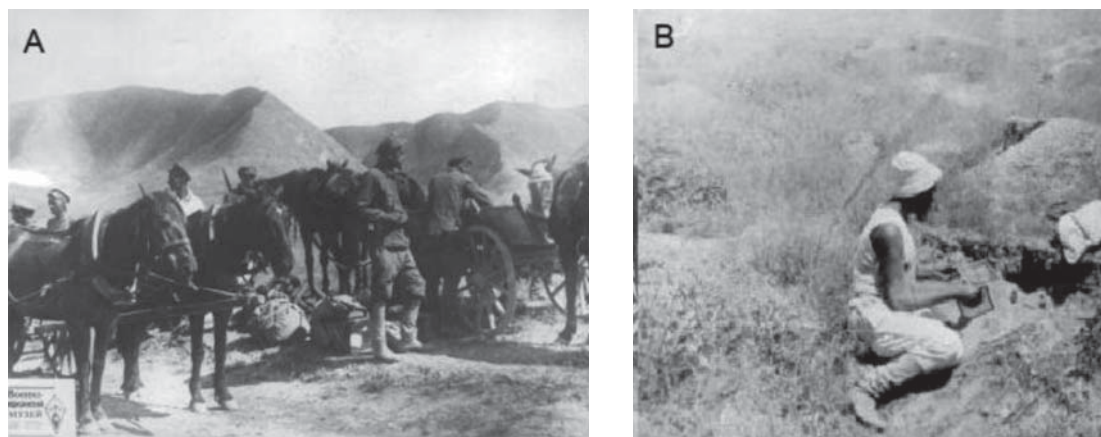


Рис. 1. Паразитологические экспедиции в Среднюю Азию: А — Е.Н. Павловский среди участников экспедиции (Туркмения, 1931 г.); В — за сбором клещей в норах грызунов (Таджикистан, 1932 г.)

тали на базе гражданских или военных лечебных учреждений [6, 8]. В дневное время в полевых условиях обследовали инфекционные очаги и места обитания членистоногих (норы животных, пещеры, глинобитные постройки, дома местных жителей). По вечерам обрабатывали собранные материалы. Партии клещей осматривали с помощью микроскопической техники, систематизировали, помещали в лабораторные емкости, маркировали и хранили в специальных фанерных контейнерах, которые транспортировали с собой по всему маршруту движения экспедиции до момента возвращения на основную базу в Ленинград [6, 8].

В ходе экспедиций обследованы регионы Туркмении, Узбекистана, Таджикистана, Грузии, Армении, Дагестана, Ставропольского края. Результатом этой работы стало формирование эффективной системы противоэпидемических мероприятий, способствовавшей снижению заболеваемости среди местного населения и военнослужащих [9, 12].

Особого внимания заслуживают исследования, проводимые в период Великой Отечественной войны (1941–1943 гг.) на территории Ирана, где действовал Трансиранский маршрут («Персидский коридор», *Persian Corridor*). Это было одно из стратегических

направлений доставки Советскому Союзу американской и английской военной помощи, поставляемой по ленд-лизу [2, 15]. Доставка грузов осуществлялась из портов Персидского залива через Тегеран в Ашхабад, далее до побережья Каспийского моря, а оттуда кораблями Каспийской военной флотилии войскам Южного и Центрального фронтов. Объем грузооборота составлял до 100 тыс. тонн в месяц [4]. Высокая интенсивность воинских перевозок требовала незамедлительного выяснения причин многочисленных случаев лихорадок неясной этиологии среди обеспечивающего персонала. В этой связи большое значение имел накопленный в прежние годы опыт по изучению клещевых инфекций на территории Средней Азии. Система противоэпидемических мероприятий, сформированная при непосредственном участии Е.Н. Павловского, способствовала бесперебойной работе важного транспортного канала и послужила вкладом специалистов Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в победу над фашистской Германией (рис. 2) [9].

Таким образом, в состав музейной коллекции входят экземпляры клещей, собранные в активных инфекционных очагах. Их биологический материал с

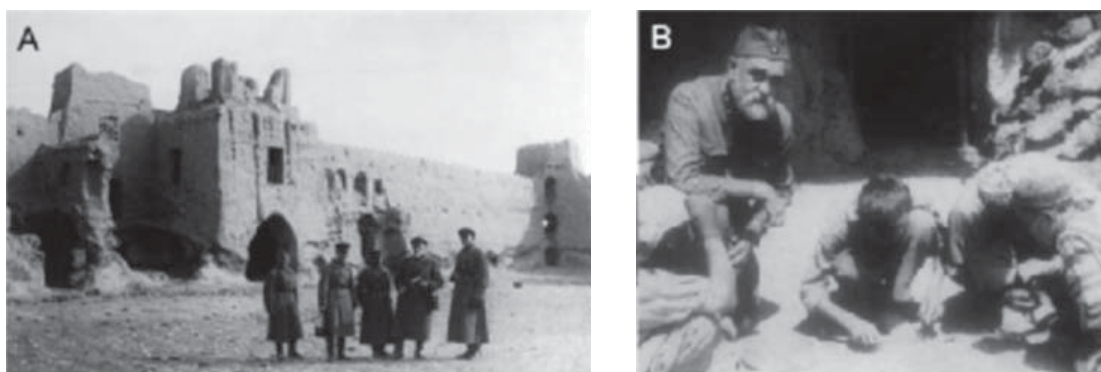


Рис. 2. Паразитологическая экспедиция в Иран: А — Е.Н. Павловский среди участников экспедиции (г. Мешхед, 1943 г.); В — за сбором клещей в хозяйственных постройках



Рис. 3. Карта-схема основных мест сбора клещей. 1–28 – места сбора клещей (регион – см. табл. 1).

высокой долей вероятности может содержать генетические маркеры наиболее актуальных на тот период клещевых инфекций. Это подтверждает высокую современную актуальность музейной коллекции клещей.

Ревизия коллекции клещей показала, что сбор материала проводился в окрестностях 28 населённых пунктов, расположенных на территории 7 регионов Средней и Центральной Азии (рис. 3; табл. 1).

Основная часть материала была собрана в период с 1934 по 1945 г. на территории Узбекистана, Туркмении и Ирана (табл. 2, 3).

В качестве мест обитания клещей обследовались норы полевок, сусликов, лисиц, места обитания черепах, дикообразов, летучих мышей, а также кошары и другие помещения для содержания домашних животных, хозяйственные постройки, стойбища чабанов,

Таблица 1

Характеристика основных мест сбора клещей

№	Регион	Название ближайшего населенного пункта (историческое / современное)	Год сбора
	Азербайджан	ст. Уджары	1935
	Армения	с. Давалу (п. Арарат)	1939
	Грузия	г. Тифлис (г. Тбилиси)	1934
	Дагестан	с. Кумторкала	1940
	Иран	г. Кучан	1941
	Иран	г. Мешхед	1941
	Иран	г. Боджнурд	1942
	Иран	г. Шахруд	1942
	Иран	г. Керманшах	1943
	Казахстан	г. Алма-Ата (г. Алматы)	1939
	Киргизия	г. Кызыл-Кия	1939
	Киргизия	г. Ош	1935, 1945
	Туркмения	г. Кара-Кала (г. Махтумкули)	1945, 1948
	Узбекистан	г. Беруни	1936
	Узбекистан	г. Китаб	1937
	Узбекистан	«Совхоз Москва», близ г. Самарканд	1940
	Узбекистан	г. Каттакурган	1940
	Узбекистан	г. Пахта-Арал (г. Мырзакент, Казахстан)	1940
	Узбекистан	г. Шахрисабз	1940
	Узбекистан	п. Султанабад	1942
	Узбекистан	«Колхоз Сталин», п. Гульбахор	1944
	Узбекистан	«Колхоз Фрунзе», п. Машраб	1944
	Узбекистан	«Колхоз им. Карла Маркса», п. Дунган	1945
	Узбекистан	п. Сурхан	1945
	Узбекистан	г. Байсун	1950
	Узбекистан	г. Фергана	1934, 1938
	Узбекистан	г. Самарканд	1941, 1942, 1944, 1945
	Узбекистан	с. Джулангар, ст. Урсатьевская (п. Хаваст),	1940, 1943, 1944, 1949, 1951, 1953, 1955

Таблица 2
Распределение материалов коллекции по годам, %

Годы	Клещи	Обследованные очаги
1934–1939	32,2	27,2
1940–1945	44	52,8
1946–1950	16,7	12,8
1950–1955	7,1	7,2

Таблица 3
Распределение материалов коллекции по регионам, %

Регион	Клещи	Обследованные очаги
Иран	8,4	22,2
Кавказ	4,6	6,1
Казахстан	3,1	3,2
Киргизия	1,7	3,3
Таджикистан	1,7	1,6
Туркмения	11,4	8,9
Узбекистан	69,1	54,7

жилые сооружения. Партии клещей, собранных в каждом из обследованных мест, помещались в отдельные пробирки (рис. 4).

Каждая партия членистоногих снабжалась описанием, в котором указывались дата и место сбора, количество и вид клещей (рис. 5). Кроме того, в описании содержатся сведения о последующем кормлении клещей в условиях стационарной лаборатории.

В настоящее время коллекция включает 580 лотов (партий клещей, собранных в одном месте), насчитывающих более 15000 экземпляров членистоногих, среди которых преобладают клещи *Ornithodoros papillipes*. Помимо этого, в материалах коллекции присутствуют клещи *Ornithodoros tartakovsky*, *Ornithodoros lahorensis*, *Ornithodoros verrucosus*, *Argas persicus*, *Hyalomma anatolicum*, а также некоторые другие виды переносчиков.

Анализ описаний показал, что в стационарных условиях кормление клещей осуществлялось на лабораторных мышах и морских свинках с периодичностью 1 раз в 1–3 г. Одновременно с кормлением проводился анализ состояния и жизнеспособности клещей. Установлено, что после каждого периода наблюдения количество жизнеспособных клещей сокращалось на 5–20%. Последние сведения о кормлении датированы 1962–1964 гг. После этого коллекция не обследовалась и хранилась в запасниках кафедры биологии имени Е.Н. Павловского Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. В настоящее время среди

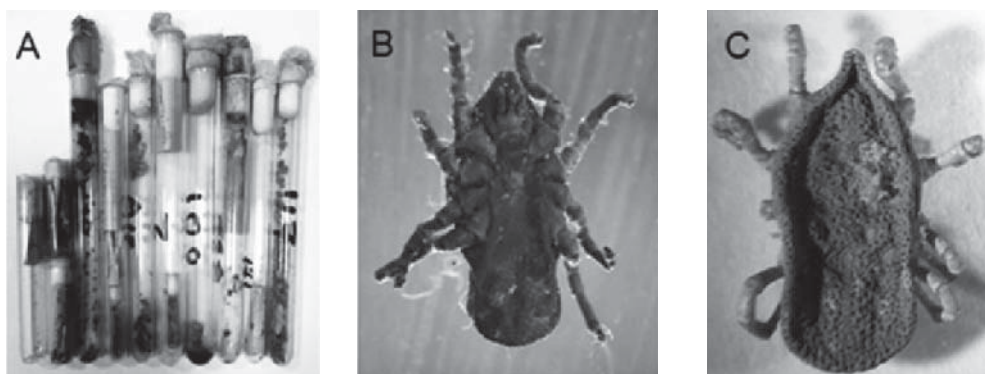


Рис. 4. Коллекция клещей Е.Н. Павловского: А – пробирки с клещами (лоты); В, С – современный внешний вид клеща *O. papillipes*, отловленного на территории Узбекистана в 1942 г. (стереоувеличение)

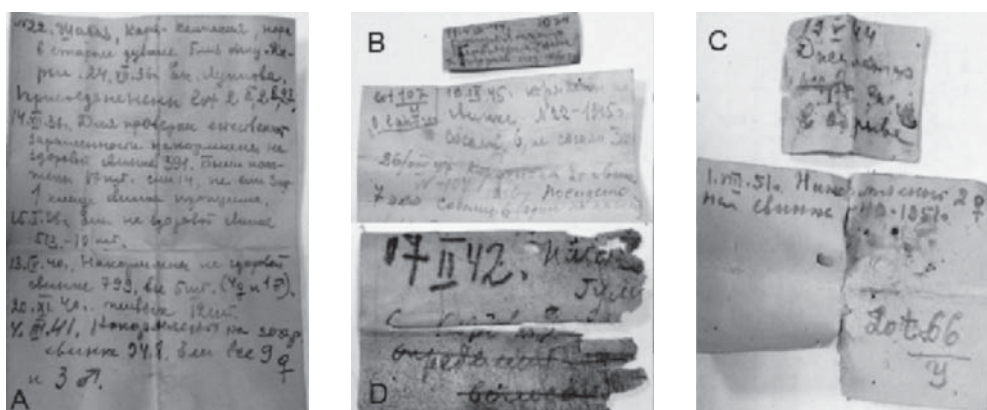


Рис. 5. Описания лотов в коллекции Е.Н. Павловского: А – Узбекистан, Каракалпакия, 1936 г.; В, С – Узбекистан, с. Джулангар, 1944 г.; D – Иран, 1942 г.

музейных образцов жизнеспособных клещей не выявлено. Большинство клещей сохранили характерный внешний вид. Лишь в некоторых партиях обнаружены частично фрагментированные экземпляры членистоногих (отрыв конечностей, частичная фрагментация тела и др.).

В целом коллекция имеет удовлетворительное состояние. Образцы сохранили основные морфологические признаки, необходимые для уточнения видовой принадлежности клещей, и пригодны для дальнейшего обследования. В ходе ревизии материалы коллекции были учтены и систематизированы, информация о каждой партии членистоногих внесена в электронную базу данных.

С целью оценки сохранности генетического материала в коллекционных пробах проведено пробное исследование 48 экземпляров клещей. Все исследованные членистоногие относились к виду *O. papillipes* и были собраны в период с 1936 по 1945 г. на территории Армении, Дагестана, Грузии, Ирана, Киргизии, Туркмении, Узбекистана, Таджикистана (табл. 4).

О сохранности генетического материала судили на основании анализа результатов ПЦР-РВ с праймерами к одному из консервативных участков митохондриальной ДНК клещей [14]. Значения порогового цикла амплификации (C_t) при исследовании музейных

образцов сравнивали с соответствующими показателями, полученными при исследовании клещей *I. persulcatus* (собраны на территории Новосибирской области в 2017 г.).

Анализ результатов ПЦР-РВ показал, что во всех случаях кривые накопления флуоресценции имели характерный S-образный профиль, а показатель C_t не превышал 40 циклов амплификации. Это служило положительным критерием качества пробоподготовки исследуемого материала. Сравнение результатов исследования опытной и контрольной групп показало, что показатель C_t при обследовании музейных образцов составлял от 30 до 40 циклов амплификации, при исследовании контрольной группы – от 14 до 20 циклов (рис. 6).

Полученные результаты могут служить косвенным признаком частичной деградации мт-ДНК клещей вследствие длительного хранения биологического материала без специальных условий. Вместе с тем количество фрагментов ДНК, сохранившихся в музейных образцах, достаточно для их выявления с помощью наиболее распространенных методик молекулярно-генетического анализа.

С помощью коммерческих ПЦР-тестов проведено обследование опытных образцов (см. табл. 4) для выявления маркеров клещевых инфекций (табл. 5).

Таблица 4

Характеристика обследованных клещей из коллекции Е.Н. Павловского

№ лота	Количество клещей	Вид*	Регион	Место сбора	Год	Примечание
1	6	<i>O. papillipes</i>	Армения	н. п. Давалу	1939	Хозяйственные постройки
2	5	<i>O. papillipes</i>	Иран	г. Боджнурд	1942	Хозяйственные постройки
3	4	<i>O. papillipes</i>	Иран	г. Шахруд	1942	Хозяйственные постройки
4	7	<i>O. papillipes</i>	Иран	г. Керманшах	1943	Хозяйственные постройки
5	3	<i>O. papillipes</i>	Киргизия	г. Кзыл-Ким	1939	Жилая постройка
6	4	<i>O. papillipes</i>	Киргизия	г. Ош	1945	Хозяйственные постройки
7	6	<i>O. papillipes</i>	Туркмения	г. Кара-Кала	1948	Норы песчанок
8	8	<i>O. papillipes</i>	Туркмения	г. Кара-Кала	1948	Пещера дикобраза
9	5	<i>O. papillipes</i>	Узбекистан	г. Беруни	1936	Нора ежа
10	4	<i>O. papillipes</i>	Узбекистан	г. Беруни	1936	Хозяйственные постройки

Примечание: * – в исследованиях использовались имаго клещей без дифференцировки пола.

Таблица 5

ПЦР-тесты, использованные для выявления маркеров клещевых инфекций

ПЦР-тест	Назначение	Возбудитель	Нозологическая форма
«РеалБест ДНК <i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.»	Выявление ДНК-маркера возбудителей иксодового клещевого боррелиоза (участок гена 23SrRNA)	Боррелии комплекса <i>Borrelia burgdorferi</i> s. l.	ИКБ
«РеалБест ДНК <i>Borrelia miyamotoi</i> »	Выявление ДНК-маркера возбудителя клещевой возвратной лихорадки (участок гена <i>glpQ</i>)	<i>Borrelia miyamotoi</i>	Клещевая возвратная лихорадка
«РеалБест ДНК <i>Rickettsia species</i> »	Выявление ДНК-маркера риккетсий, относящихся к группе клещевых пятнистых лихорадок (консервативный участок гена <i>gltA</i>)	<i>Rickettsia spp.</i> (без уточнения вида)	Клещевые риккетсиозы
*«РеалБест ДНК <i>Coxiella burnetii</i> »	Выявление участка ДНК гена <i>IS1111</i> возбудителя Ку-лихорадки	<i>Coxiella burnetii</i>	Ку-лихорадка
*«РеалБест ДНК <i>Francisella tularensis</i> »	Выявление участка ДНК гена <i>tul4</i> возбудителей туляремии	<i>Francisella tularensis</i>	Туляремия

Примечание: * – экспериментальная лабораторная версия ПЦР-теста.

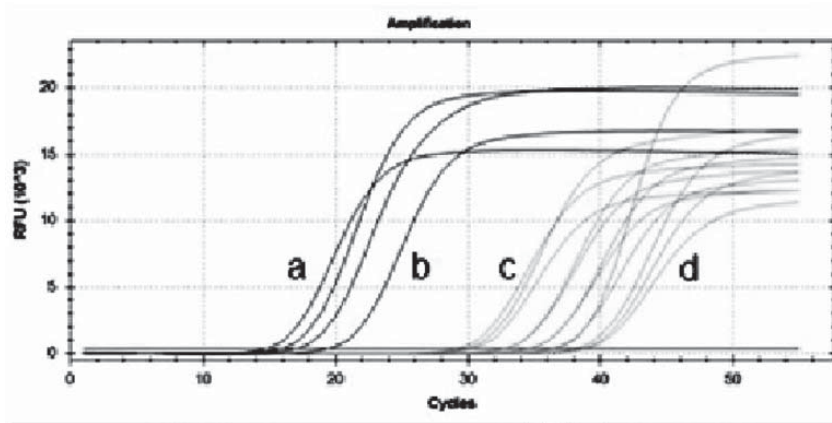


Рис. 6. Кривые накопления флуоресценции, полученные при амплификации мт-ДНК клещей: а-б – контрольные образцы (клещи *I. persulcatus*, сбор 2017 г.); с-д – исследуемые образцы (клещи *O. papillipes* из коллекции Е.Н. Павловского)

Из 48 проб 8 дали положительные результаты на наличие фрагментов нуклеиновых кислот возбудителей клещевых риккетсиозов (*Rickettsia species*) (табл. 6). В одной из проб обнаружены генетические маркеры возбудителей болезни Лайма (*Borrelia burgdorferi s. l.*). В одном случае выявлены фрагменты ДНК, специфичные для возбудителей Ку-лихорадки (*Coxiella burnetii*). Результаты исследования генетических маркеров возбудителей клещевого иксодового боррелиоза (*Borrelia miyamotoi*) и туляремии (*Francisella tularensis*) во всех случаях оказались отрицательными (табл. 6).

Из 10 обследованных лотов, отличающихся местом и датой сбора членистоногих, ДНК возбудителей клещевых инфекций были идентифицированы в половине случаев.

Среди положительных проб на маркеры риккетсий большая часть приходится на долю клещей *O. papillipes*, собранных в 1948 г. на территории Туркмении в окрестностях населенного пункта Кара-Кала (современное название Махтумкули), расположенного недалеко от границы с Ираном. Помимо этого, генетические маркеры *Rickettsia species* были выявлены в материале от клещей, собранных в 1936 г. в одной из хозяйственных построек города Беруни (Узбекистан), а также в 1943 г. на территории Ирана близ города Керманшах. Положительные пробы на ДНК боррелий

группы *Borrelia burgdorferi s.l.* были получены при обследовании одного из клещей, найденного в 1936 г. на территории Узбекистана. Специфические нуклеотидные последовательности *Coxiella burnetii* обнаружены в тканях клеща, отловленного в одном из жилых домов города Кзыл-Ким (Киргизия, 1939).

Анализ кривых накопления флуоресценции при амплификации участков бактериальной ДНК показал, что во всех случаях показатель C_t составлял от 32 до 44 циклов (табл. 7). Это может свидетельствовать о частичной деградации генетического материала инфекционных агентов. Вместе с тем количество бактериальной ДНК, сохранившееся в музейных образцах, достаточно для ее выявления методами молекулярно-генетического анализа.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют об актуальности и большом научном потенциале коллекции Аргасовых клещей, собранных в период 1934–1954 гг. в ходе экспедиций под руководством академика Е.Н. Павловского. Биологический материал сохранился в хорошем состоянии и пригоден для проведения дальнейших молекулярно-генетических исследований. Образцы содержат ДНК-маркеры возбудителей клещевых инфекций, которые могут быть идентифицированы с помощью ПЦР-РВ. Целесообразно планирование

Таблица 6

Положительные результаты исследования генетических маркеров возбудителей инфекций

№ лота	Регион	Год	Месяц	Количество обследованных клещей	Количество положительных проб		
					<i>Rickettsia spp.</i>	<i>Borrelia burgdorferi s. l.</i>	<i>C. burnetii</i>
4	Иран	1943	март	7	1		
5	Киргизия	1939	июнь	3			1
7	Туркмения	1948	март	6	4		
8	Туркмения	1948	июнь	8	2		
10	Узбекистан	1936	июль	4	1	1	

Значения C_t в положительных пробах при постановке ПЦР-РВ

№ образца	Регион	Год	Месяц	Значения C_t	Возбудитель (генетический маркер)
4	Узбекистан	1936	июль	37	<i>Rickettsia spp.</i>
12	Иран	1943	март	39	
33	Туркмения	1948	март	44	
34	Туркмения	1948	март	34	
35	Туркмения	1948	март	37	
36	Туркмения	1948	март	37	
37	Туркмения	1948	июнь	39	
42	Туркмения	1948	июнь	32	
3	Узбекистан	1936	июль	39	<i>Borrelia burgdorferi s. l.</i>
19	Киргизия	1939	июнь	39	<i>C. burnetii</i>

дальнейших исследований, в том числе направленных на изучение эволюции геномов возбудителей клещевых риккетсиозов и их переносчиков – клещей семейства *Argasidae*. Перспективным направлением исследований может стать сравнительное изучение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в геноме коллекционных и современных патогенов. С учетом ценности коллекции и перспективы открывающихся возможностей целесообразно планирование комплексных исследований на основе широкой научной кооперации.

Литература

- Балашов, Ю.С. Экспериментальная межвидовая гибридизация Аргасовых клещей *Ornithodoros papillipes*, *O. tartakovskyi*, *O. verrucosus* (*Argasidae*, *Ixodoidea*) / Ю.С. Балашов // *Паразитология*. – 1970. – Т. 6, № 3. – С. 274–282.
- Барятинский, М. Ленд-лиз: маршруты, объемы и долг / М. Барятинский // *Военно-промышленный курьер*. – 2011. – № 8 (374). – С. 10.
- Бондаренко, Е.И. Выявление генетических маркеров возбудителей клещевых риккетсиозов в ПЦР с помощью наборов реагентов «РеалБест ДНК *Rickettsia species*» и «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica* / *Rickettsia heilongjiangensis*» / Е.И. Бондаренко [и др.] // *Новости «Вектор-Бест»*. – 2018. – № 1 (87). – С. 2–10.
- Зорин, Л. Организация автомобильных перевозок воинских грузов через Иран / Л. Зорин, И. Каргин // *Воен-истор. журн.* – 1974, № 7. – С. 41–48.
- Кербабаев, Э.Б. Кровососущие клещи семейства *Argasidae* *Canestrini* 1890 на территории бывшего СССР / Э.Б. Кербабаев // *Росс. паразитол. журн.* – 2012. – № 2. – С. 16–29.
- Козырин, И.П. Среднеазиатские экспедиции академика Е.Н. Павловского в фотографиях и документах Военно-медицинского музея / И.П. Козырин, Б.И. Назарцев // *Фотография. Изображение. Документ*. – 2014. – Вып. 5. – С. 19–29.
- Магомедханов, В. Ленд-лиз: Иранский коридор в СССР / В. Магомедханов // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 1. – С. 18–21.
- Назарцев, Б.И. Письма Е.Н. Павловского из среднеазиатской паразитологической экспедиции 1928 года / Б.И. Назарцев // *Фотография. Изображение. Документ*. – 2014. – Вып. 5. – С. 30–48.
- Мокроусов, В.Н. Советские эпидемиолого-паразитологические экспедиции в Иран в 1941–1943 гг. / В.Н. Мокроусов, В.Ю. Кравцов, Л.Л. Кравцова. // *Воен.-мед. журн.* – 2018. – Т. 339, № 9. – С. 82–87.
- Никитин, А.Ф. К истории кафедры биологии и паразитологии (малоизвестные страницы) / А.Ф. Никитин. – СПб: ВМА, 1998. – 50 с.
- Павловский, Е.Н. Распространение *Ornithodoros papillipes* в связи с эпидемиологией клещевого рекуррента в Юго-Восточном Таджикистане / Е.Н. Павловский, Г.Я. Змеев // *Тр. Тадж. базы АН СССР*. – 1939. – С. 11.
- Петрищева, П.А. Клещевой возвратный тиф / П.А. Петрищева, А.Н. Скрынник // *География природно-очаговых болезней человека в связи с задачами их профилактики*. – М.: Медицина, 1968. – С. 95–119.
- Поспелова-Штром, М.В. Клещи-орнитодорины и их эпидемиологическое значение / М.В. Поспелова-Штром. – М.: Медгиз, 1953. – 235 с.
- Тимофеев, Д.И. Экстракция нуклеиновых кислот из клещей: проблемы и возможности стандартизации / Д.И. Тимофеев, Н.В. Фоменко, М.К. Иванов // *Сиб. мед. журн.* – 2012. – № 4. – С. 45–48.
- Тимофеев, Д.И. Новые наборы реагентов для выявления нуклеиновых кислот вируса клещевого энцефалита и боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi s. l.* методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени / Д.И. Тимофеев [и др.] // *Новости «Вектор-Бест»*. – 2014. – № 1 (71). – С. 2–11.
- Френкель, М. Трансафриканский маршрут поставок вооружений из США в СССР в 1941–1945 гг. / М. Френкель // *США: экономика, политика, идеология*. – 1993. – № 5. – С. 42–50.
- Barros-Battesti1, D. M. Immature argasid ticks: diagnosis and keys for Neotropical region / D.M. Barros-Battesti1 [et al.] // *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* – 2013. – Vol. 22, № 4. – P. 443–456.
- Durden, L.A. The U.S. National Tick Collection: A Vital Resource for Systematics and Human and Animal Welfare / L.A. Durden, J.E. Keirans, J.H. Oliver // *American entomologist*. – 1996. – Vol. 42, № 4. – P. 239–249.
- Hoogstraal, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors / H. Hoogstraal // *Adv. Parasitol.* – 1985. – Vol. 24. – P. 135–238.
- Hoskins, J. D. Ixodid and Argasid Ticks: Keys to their Identification / J. D. Hoskins // *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. – 1991. – Vol. 21, № 1. – P. 185–197.
- Guglielmone, A.A. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names / A.A. Guglielmone [et al.] // *Zootaxa*. – 2010. – № 2528. – P. 1–28.
- Kuo, C. Tick-borne pathogens in ticks collected from birds in Taiwan / C. Kuo [et al.] // *Parasites & Vectors*. – 2017. – № 10. – P. 1–13.
- Laaksonen, M. Crowdsourcing-based nationwide tick collection reveals the distribution of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* and associated pathogens in Finland / M. Laaksonen, E. Sajanti, J.J. Sormunen // *Emerging Microbes & Infections*. – 2017. – № 6. – P. 1–7.

24. Persing, D. H. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in museum specimens of *Ixodes dammini* ticks / D.H. Persing [et al.] // Science (New York, N.Y.). – 1990. – Vol. 249. – P. 1420–1423.
25. Tobolewski, J.I. Detection and identification of mammalian DNA from the gut of museum specimens of ticks / J.I. Tobolewski [et al.] // J. Med. Entomol. – 1992, № 6. – P. 1049–1051.
-

A.I. Solovov, E.I. Bondarenko, D.I. Timofeev, A.I. Rakin, V.Yu. Kravtsov

Ticks collection of academician E.N. Pavlovsky and modern prospects of molecular genetic research

Abstract. *E.N. Pavlovsky is founder of doctrine about the natural foci diseases. The unique collection of ticks (Argasidae), which are highly specialized ectoparasites of terrestrial vertebrate animals. Part of the collection was formed during the Great Patriotic War (1941–1943) in Iran in the Trans-Iranian Route zone (Persian Corridor), one of the strategic directions for the delivery of American and British military aid to the Soviet Union. Currently, the richest collection of ticks is stored at the Department of Biology of the Military Medical Academy. C.M. Kirov, the permanent leader of which for over 40 years was E.N. Pavlovsky. The collection includes more than 15 thousand copies of arthropods. Among them are Ornithodoros papillitis, Ornithodoros tartakovsky, Ornithodoros lahorensis, Ornithodoros verrucosus, Argas persicus, as well as some other carriers of human infectious diseases. The historical collection of ticks is considered as a unique resource for the study of infectious pathogens and their vectors using molecular genetic techniques. The preservation of genetic material in the museum samples of ticks was studied in order to determine the possibility of detecting in them deoxyribonucleotide markers of tick-borne pathogens (tick-borne infections).. Genetic markers of tick-borne infections were identified in 10 instances from of 48 ticks instances. The 8 samples were positive for the presence fragments of nucleic acids of tick-borne rickettsia (Rickettsia species). There were identified the genetic markers of causative agent Lyme disease (Borrelia burgdorferi s.l.) in one of the samples. In addition, the deoxyribonucleic acid fragments specific to Q-fever (Coxiella burnetii) were discovered in one case. The obtained data testify to the high scientific significance of the E.N. Pavlovsky collection in modern conveniences. The unique biological material can be used to study the structure and evolution of the genome of ticks Argasidae, as well as etiology and the spread of tick-borne infections.*

Key words: *E.N. Pavlovsky, ticks collection, Argasidae, tick-borne relapsing fever, Polymerase chain reaction, Real-time polymerase chain reaction, Quantitative polymerase chain reaction, middle Asia, Iran, «Persian Corridor», Lend Lease.*

Контактный телефон: +7-911-811-32-49; e-mail: vmeda-nio@mil.ru