

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146

УДК 578.833:579.25

Н.Л. Тупота¹, В.А. Терновой¹, Е.П. Пономарева¹, Р.Б. Баяндин¹, А.Н. Швалов¹, Б.С. Малышев¹,
Т.В. Трегубчак¹, Т.В. Бауэр¹, Е.В. Протопопова¹, Н.К. Петрова², Е.В. Жебровская², Е.Г. Бурухина²,
Т.Ф. Хомичук², А.П. Агафонов¹, Р.А. Максюттов¹, В.Б. Локтев¹

Выявление генетического материала вирусов Tacheng uukuvirus и Sara tick phlebovirus в таежных клещах Свердловской, Томской областей и Приморского края России и их филогения

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Центр геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий, р.п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», Владивосток, Российская Федерация

Широкое распространение заболеваний, передающихся клещами, представляет значительную проблему для общественного здравоохранения и здоровья населения, проживающего в эндемичных районах. Цель работы – с использованием метода высокопроизводительного секвенирования провести поиск, анализ генетического материала и идентификацию новых вирусных агентов семейства *Phenuiviridae* в иксодовых клещах, собранных в различных регионах азиатской части России. **Материалы и методы.** В исследовании использованы 1460 таежных клещей, собранных в пригородных районах Томска, Екатеринбурга и в Приморском крае. Генетический материал, выделенный из клещей, анализировали методом высокопроизводительного секвенирования с использованием технологии Illumina с последующим филогенетическим анализом. **Результаты и обсуждение.** Анализ результатов секвенирования позволил обнаружить протяженные нуклеотидные последовательности L-гена, характерного для вирусов семейства *Phenuiviridae*. Удалось идентифицировать 20 нуклеотидных последовательностей длиной в среднем 250 п.н. в гомогенатах клещей *Ixodes persulcatus*. Восемнадцать изолятов идентифицированы как представители рода *Uukuvirus* и два изолята отнесены к роду *Phlebovirus* семейства *Phenuiviridae*. Филогенетический анализ показал, что все изоляты рода *Uukuvirus* кластеризуются с Tacheng tick virus 2, который относится к виду Tacheng uukuvirus. Они формируют отдельную филогенетическую группу этого вида вируса, близкую к двум румынским вариантам 2019 г. Генетический материал Tacheng tick virus 2 обнаружен во всех трех исследованных регионах азиатской части России. Два томских изолята флебовируса классифицированы как Sara tick phlebovirus. При этом они кластеризовались с двумя изолятами флебовирусов из Карелии. Таким образом, в клещах *I. persulcatus*, собранных в трех географически различных регионах азиатской части России, обнаружен генетический материал Tacheng tick virus 2 и Sara tick phlebovirus, относящийся к двум родам семейства *Phenuiviridae*.

Ключевые слова: клещевые инфекции, таежные клещи, *Ixodes persulcatus*, *Phenuiviridae*, Tacheng tick virus 2, Sara tick phlebovirus, Россия.

Корреспондирующий автор: Тупота Наталья Леонидовна, e-mail: tupota_nl@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Тупота Н.Л., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Баяндин Р.Б., Швалов А.Н., Малышев Б.С., Трегубчак Т.В., Бауэр Т.В., Протопопова Е.В., Петрова Н.К., Жебровская Е.В., Бурухина Е.Г., Хомичук Т.Ф., Агафонов А.П., Максюттов Р.А., Локтев В.Б. Выявление генетического материала вирусов Tacheng uukuvirus и Sara tick phlebovirus в таежных клещах Свердловской, Томской областей и Приморского края России и их филогения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:141–146. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146

Поступила 07.12.2022. Отправлена на доработку 30.01.2023. Принята к публ. 10.05.2023.

N.L. Tupota¹, V.A. Ternovoi¹, E.P. Ponomareva¹, R.B. Bayandin¹, A.N. Shvalov¹, B.S. Malyshev¹,
T.V. Tregubchak¹, T.V. Bauer, E.V. Protopopova¹, N.K. Petrova², E.V. Zhebrovskaya²,
E.G. Burukhina², T.F. Khomichuk², A.P. Agafonov¹, R.A. Maksyutov¹, V.B. Loktev¹

Detection of the Genetic Material of the Viruses Tacheng uukuvirus and Sara tick phlebovirus in Taiga Ticks Collected in the Sverdlovsk, Tomsk Regions and Primorsky Territory of Russia and Their Phylogeny

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, World Genomic Research Center for Provision of Biological Safety and Technological Independence within the Frames of Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies, Kol'tsovo, Russian Federation;

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Extensive spread of tick-borne diseases poses a significant problem for public health and the health of the population living in endemic areas. The aim of the study was to search, analyze genetic material and identify new viral agents of the *Phenuiviridae* family in taiga ticks collected in Asian regions of Russia using the method of high throughput sequencing. **Materials and methods.** The study involved 1460 taiga ticks collected in suburban areas of the Tomsk, Yekaterinburg and Primorsky Territory. The genetic material isolated from ticks was sequenced using Illumina technology followed by phylogenetic analysis. **Results and discussion.** Analysis of the sequencing results made it possible to detect extended nucleotide sequences of the L-gene fragment characteristic of the *Phenuiviridae* family viruses. We were able to identify 20 nucleotide sequences the length of 250 bp on average in homogenates of *Ixodes persulcatus* ticks. Eighteen isolates have been identified as members of the genus *Uukuvirus* and two isolates have been assigned to the genus *Phlebovirus*, *Phenuiviridae* family. Phylogenetic analysis has shown that all isolates of the genus *Uukuvirus* fall under the cluster of Tacheng tick virus 2 belonging to the species Tacheng uukuvirus. They form a separate phylogenetic

group which is closely related to two Romanian variants of 2019. Tacheng tick virus 2 was detected in all three surveyed regions of the Asian part of Russia. Two Tomsk isolates of phlebovirus were classified as Sara tick phlebovirus and they clustered with two isolates of phleboviruses from Karelia. Thus, the genetic material of Tacheng tick virus 2 and Sara tick phlebovirus belonging to two genera of the family *Phenuiviridae* was found in *I. persulcatus* ticks collected in three geographically different regions of the Asian part of Russia.

Key words: tick-borne infections, taiga tick, *Ixodes persulcatus*, *Phenuiviridae*, Tacheng tick virus 2, Sara tick phlebovirus, Russia.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Contract No 075-15-2019-1665) and the State Assignment SA-9/21.

Acknowledgements: The authors express their deep gratitude to N.S. Moskvitina, Doctor of Biological Sciences, Professor (Tomsk State University, Tomsk) and the clinical diagnostic laboratory “Citylab” (Yekaterinburg) for collecting and providing taiga ticks for this study.

Corresponding author: Natalia L. Tupota, e-mail: tupota_nl@vector.nsc.ru.

Citation: Tupota N.L., Ternovoi V.A., Ponomareva E.P., Bayandin R.B., Shvalov A.N., Malyshev B.S., Tregubchak T.V., Bauer T.V., Protopopova E.V., Petrova N.K., Zhebrovskaya E.V., Burukhina E.G., Khomichuk T.F., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Loktev V.B. Detection of the Genetic Material of the Viruses Tacheng uukuvirus and Sara tick phlebovirus in Taiga Ticks Collected in the Sverdlovsk, Tomsk Regions and Primorsky Territory of Russia and Their Phylogeny. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:141–146. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146
Received 07.12.2022. Revised 30.01.2023. Accepted 10.05.2023.

Tupota N.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6150-370X>
Ternovoi V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1275-171X>
Ponomareva E.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8237-457X>
Bayandin R.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6460-0828>
Shvalov A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6890-1575>

Malyshev B.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>
Tregubchak T.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9608-2044>
Agafonov A.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1314-281X>
Loktev V.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0229-321X>

Иксодовые клещи являются важными переносчиками различных возбудителей болезней человека и животных [1, 2]. Вирусы семейства *Phenuiviridae* известны как одна из самых разнообразных групп клещевых РНК-содержащих вирусов с сегментированным геномом [3, 4]. Большинство вирусов из семейства *Phenuiviridae* в настоящее время относятся к родам *Uukuvirus* и *Phlebovirus*. Многие представители *Phenuiviridae* не обладают М-сегментом, и они были обнаружены у клещей *Haemaphysalis* spp. и *Ixodes* spp. в разных регионах мира [5].

Ранее в иксодовых клещах были найдены различные представители семейства *Phenuiviridae*. Это вирусы Bhanja, Uukuniemi, Kaisodi, Pacific Coast tick phlebovirus, Tick phlebovirus [5–8]. Уукувирусы Dabieshan tick virus и Lihan tick virus, а также бандавирус, способный вызвать лихорадку с синдромом тромбоцитопении, были обнаружены в клещах в Китайской провинции Хубей [9]. Всего обнаружено 12 РНК-содержащих вирусов, относящихся к семействам *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae* и *Rhabdoviridae* в клещах *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*. Известно, что некоторые уукувирусы способны вызывать у человека заболевания, приводящие к поражению периферических нервов [10, 11].

Переносимые членистоногими флебовирусы подразделяют на группу вирусов, распространяемых комарами родов *Phlebotomus* и *Lutzomyia*, и группу вирусов Uukuniemi, переносчиками которых являются клещи. В циркуляции этих вирусов могут играть важную роль такие домашние животные, как кошки и собаки [8]. Это – хорошо известные вирусы лихорадки долины Рифт, Тоскана, сицилийской и неаполитанской москитных лихорадок. В 2009 г. в Китае у людей были зарегистрированы первые случаи тя-

желой лихорадки с синдромом тромбоцитопении, связанные с новым флебовирусом Даби [12]. В США из крови пациентов с аналогичной клинической картиной был выделен флебовирус Heartland, имеющий высокий уровень гомологии с вирусом Даби [13].

Ранее, в 2005–2018 гг., в иксодовых клещах, собранных в европейской части России, был обнаружен генетический материал представителей семейства *Phenuiviridae*, включая флебовирусы [3]. Эти результаты позволяли сделать предположение о том, что вирусы семейства *Phenuiviridae* распространены существенно шире и их ареал может захватывать азиатскую часть России.

Целью данной работы являлось обнаружение генетического материала представителей семейства *Phenuiviridae* в таежных клещах, собранных в различных регионах азиатской части России, определение фрагментов геномных последовательностей методами высокопроизводительного секвенирования и проведение филогенетического анализа.

Материалы и методы

Для проведения исследований взяты 1460 имаго клещей *Ixodes persulcatus*, собранных в Екатеринбурге (Свердловская область) в 2014 г., в пригороде Томска в 2018 и 2021 гг. и в пограничном с Китаем районе Приморского края в 2021 г. Клещи в пригородах Томска предоставлены проф. Н.С. Москвитиной (ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»), а клещи из Екатеринбурга собраны и переданы для проведения исследований клинико-диагностической лабораторией «Ситилаб» (г. Екатеринбург). Видовая принадлежность клещей была определена по их морфологическим признакам и секвенированием нуклеотидной

последовательности фрагмента (660 п.н.) гена, кодирующего субъединицу I цитохромоксидазы в митохондриальном геноме клеща [14]. По 5 особей одного пола объединяли в пул. Если количество клещей не было кратно 5, пулы формировали по остаточному принципу. Перед гомогенизацией всех клещей промывали (один раз) в 70 % этаноле, а затем (дважды) – стерильной водой. Клещей гомогенизировали с использованием прибора TissueLyser LT (QIAGEN, Германия) с добавлением 300 мкл стерильного физраствора. Гомогенаты центрифугировали при 8000 g (12000 об/мин) в течение 5 мин при температуре 4 °C и супернатант отбирали для анализа. Тотальную РНК экстрагировали с помощью «Reagent Extract RNA» («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Водную фазу, полученную после добавления хлороформа и последующего центрифугирования, собирали и разбавляли в пропорции 1:1 свежеприготовленным 70 % этанолом, и очищали на спин-колонках Cleanup Mini («Евроген», Россия). Синтез первой цепи кДНК проводили с использованием модуля NEBNext® Ultra Directional. Синтез второй цепи ДНК проводили с использованием UMI Second Strand Synthesis Module for QuantSeq FWD Lexogen (Illumina, США). Полученную для NGS библиотеку РНК дополнительно обогащали в ПЦР с праймерами на L-ген: ATGCCAGATGAGGGCGAGGTGA (2062F) и TGGGTCAGGTGAAGGAAGGGAGGC (2735R) с использованием ПЦР-смеси «БиоМастер HS-Taq» («Биолабмикс», Россия).

Подготовленные библиотеки анализировали методом высокопроизводительного секвенирования на секвенаторе MiSeq по технологии Illumina. Алгоритмы Cutadapt (версия 1.18) [15] и SAMtools (версия 0.1.18) [16] применяли для удаления адаптеров Illumina и повторного чтения. Контиги были собраны *de novo* с использованием ассемблера MIRA (версия 4.9.6). Филогенетический анализ выполняли с фрагментами последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы и фрагментами генов, представленных в базе данных GenBank с аминокислотной идентичностью >20 %. Выравнивание последовательностей и построение филогенетических деревьев проводили в MEGA 7 (PSU, США) итеративным методом выравнивания Muscle. Анализ полученных данных осуществляли с помощью программ Unipro UGENE v. 1.30 [17] и MEGA 7 [18]. Филогенетические деревья рассчитаны по методу максимального правдоподобия с учетом 1000 реплик бутстрапов.

Результаты и обсуждение

В таежных клещах, собранных на территории Томска, Екатеринбурга и в их пригородах, а также в Приморском крае, были обнаружены нуклеотидные последовательности L-гена вирусов, предположительно относящихся к семейству *Phenuiviridae*. Они депонированы в GenBank под номерами доступа:

OP256042 – OP256046, OP204858 – OP204866.

Филогенетический анализ фрагментов L-сегмента генома Tacheng tick virus 2 представлен на рис. 1. Все обнаруженные изоляты формировали отдельную филогенетическую кладу и отличались от изолятов Tacheng tick virus 2 из Турции (2015 г.) и Китая (2019 г.), объединенных в кладу 2. Новая филогенетическая кладу Tacheng tick virus 2 (клада 1) представлена изолятами из всех трех исследованных географических районов азиатской части России с доминированием изолятов вируса от таежных клещей, собранных на Урале. Новая кладу Tacheng tick virus 2 может быть условно разделена на две субклады. Причем кладу 1а объединяет ряд новых изолятов с ранее описанными изолятами Tacheng tick virus 2 (MW561154, MW561159), полученными в 2019 г. от клещей *Dermacentor reticulatus* на территории Румынии, на границе с Молдавией [19]. Данные результаты позволяют говорить о том, что Tacheng tick virus 2 достаточно широко распространен в Северной Евразии и ассоциирован с клещами *I. persulcatus* и *D. reticulatus*, которые активно атакуют человека в этом регионе и являются принципиальными переносчиками многих клещевых инфекций вирусной, бактериальной и паразитарной природы.

Важно отметить, что китайские изоляты Tacheng tick virus 2, относящиеся к кладу 2 (MN567189 и MK801756), были получены из крови человека в 2019 г. Изолят из Турции MG764520 был выделен в 2015 г. из клещей *Rhipicephalus* spp. Таким образом, формирование двух отдельных клад может свидетельствовать о генетических различиях изолятов Tacheng tick virus 2. Вирус был обнаружен в нескольких видах клещей, в частности *D. marginatus*, *H. marginatum*, *D. nuttalli*, *D. silvarum*, *H. asiaticum*, способен инфицировать и вызывать заболевание человека, а также, по всей вероятности, широко распространен в Евразии [20]. Последовательности Tacheng tick virus 1 из Китая, полученные из клещей *D. marginatus* (NC031284) и мелких млекопитающих (MZ447773), образовали отдельную филогенетическую кладу.

На территории Томска нами обнаружен генетический материал двух флебовирусов. Филогенетический анализ показал, что эти изоляты кластеризуются в две различные генетические группы флебовирусов (рис. 2). Изолят OP256046 образовал кладу с Sara tick phlebovirus, изолированным из клещей *I. persulcatus* в Карелии в районе села Гакугса в 2018 г. Уровень гомологии этих двух флебовирусов составил 99 %, что позволяет говорить о практически полной идентичности этих вирусов. Вторая последовательность (OP204863) образовала отдельную ветвь с Kizhi virus (MT380761) и Beiji phlebovirus (MG880116). Kizhi virus был ранее выделен из таежных клещей, собранных в Карелии в 2012 г. [3]. Фрагмент томского изолята был фактически идентичен Kizhi virus, что позволяет говорить об их генетической схожести. Также Beiji phlebovirus был

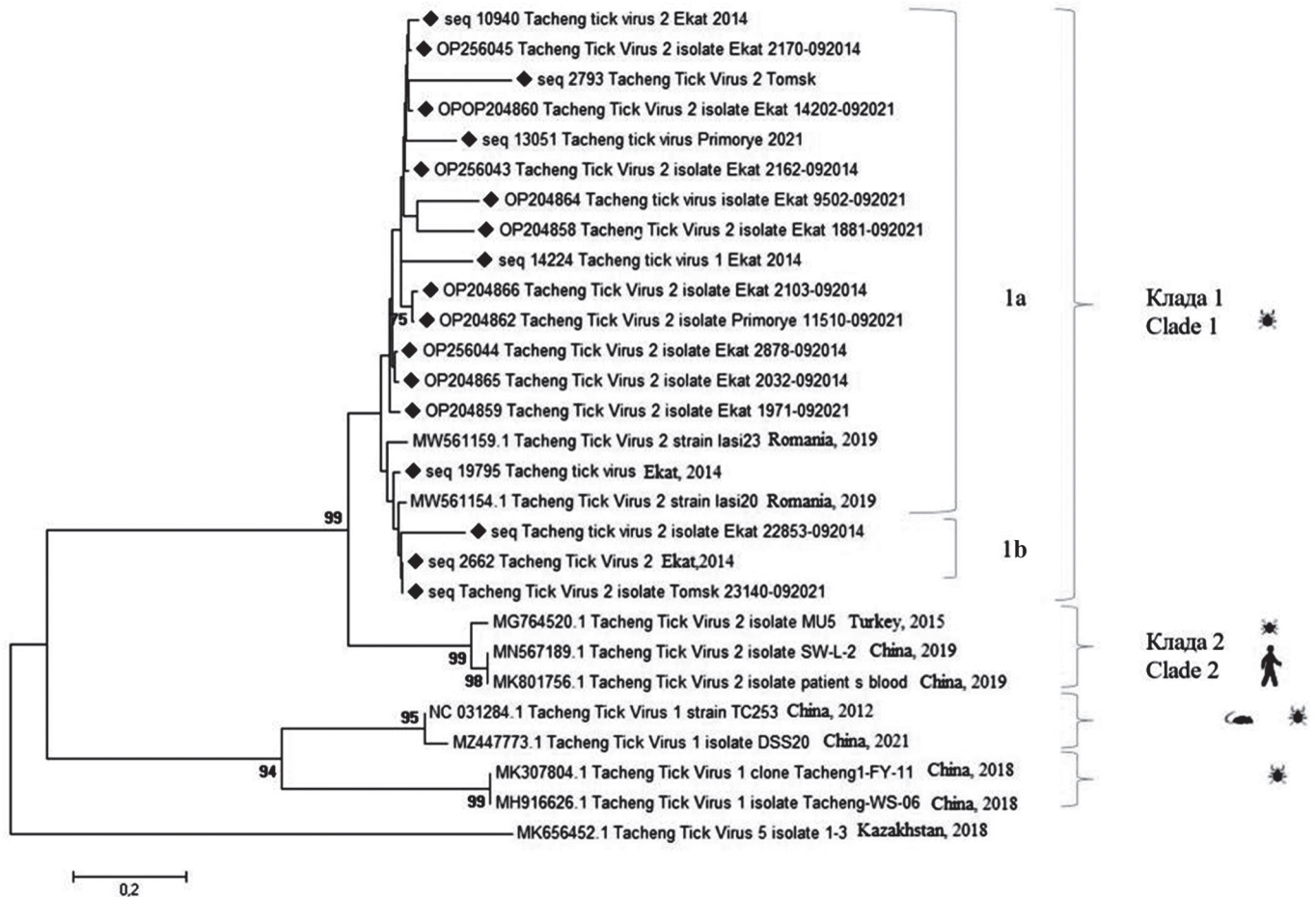


Рис. 1. Филогендрограмма, отображающая анализ максимального правдоподобия фрагментов L-гена (251 нуклеотид) Tacheng tick virus 2. Последовательности, охарактеризованные в этом исследовании, выделены символом (♦)

Fig. 1. Philodendrogram showing maximum likelihood analysis of L-gene fragments (251 nucleotides) of Tacheng tick virus 2. The sequences characterized in this study are marked with the symbol (♦)

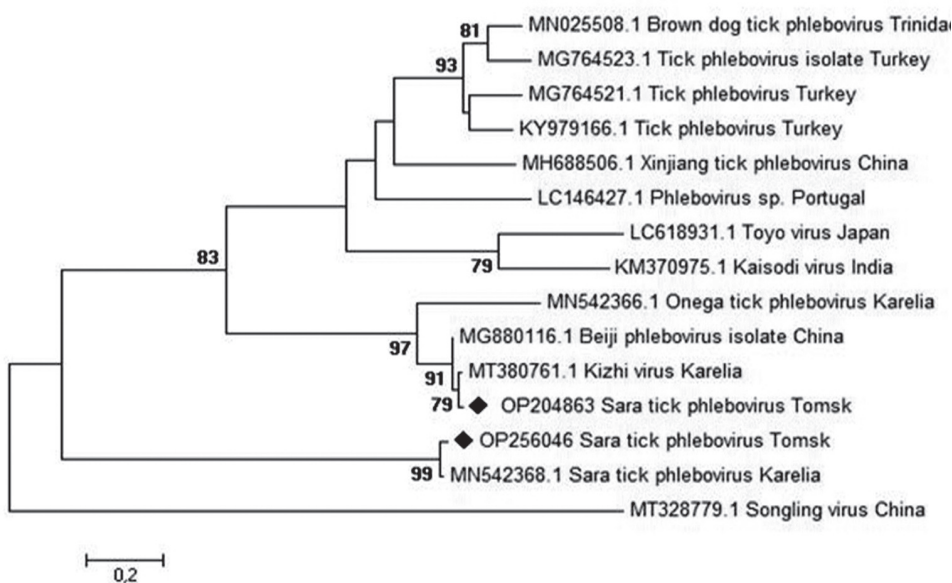


Рис. 2. Филогендрограмма, отображающая анализ максимального правдоподобия фрагмента L-сегмента (251 нуклеотид) флебовирусов семейства *Phenuiviridae*. Последовательности, охарактеризованные в этом исследовании, выделены символом (♦)

Fig. 2. Philodendrogram showing the maximum likelihood analysis of the L-segment fragment (251 nucleotides) of Sara tick phlebovirus of the *Phenuiviridae* family. The sequences characterized in this study are marked with the symbol (♦)

обнаружен в Китае в 2015 г. в клещах *I. persulcatus* и существенно не отличался от Kizhi virus на основании анализа частичной последовательности гена полимеразы с использованием пакета программ MEGA. Филогенез этих клещевых флебовирусов показывает генетическую гетерогенность данной группы неклассифицированных флебовирусов и их широкое географическое распространение в континентальной Евразии, включая Японские острова и даже острова Карибского моря.

К сожалению, попытки выделить эти вирусы на культурах клеток Vero, HEK293 и C6/36 успеха не принесли.

Таким образом, в таежных клещах, собранных в Свердловской и Томской областях, а также в Приморском крае, обнаружен генетический материал представителей родов *Phlebovirus* и *Uukuvirus* семейства *Phenuiviridae*. Нам удалось идентифицировать 18 изолятов Tacheng tick virus 2 в клещах *I. persulcatus*, собранных в трех регионах азиатской части России. Генетический материал Sara tick phlebovirus был обнаружен в Томской области. Это, без сомнения, расширяет наши представления о новых вирусах семейства *Phenuiviridae*, циркулирующих в азиатской части России. При этом существование природных очагов этих вирусов, возможный диапазон хозяев, потенциал заражения людей и культуральные особенности флебовирусов требуют дальнейшего изучения.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2019-1665) и ГЗ-9/21.

Авторы выражают глубокую благодарность д-ру биол. наук, проф. Н.С. Москвитиной (ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск) и клинико-диагностической лаборатории «Ситилаб» (г. Екатеринбург) за сбор и предоставление таежных клещей для настоящего исследования.

Список литературы

1. Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., Ye R.Z., Wu Y.Q., Jiang J.F., Sun Y., Wang Q., Shum M.H., Chang Q.C., Zhao L., Han X.H., Ma K., Shen S.J., Zhang M.Z., Guo W.B., Zhu J.G., Zhan L., Li L.J., Ding S.J., Zhu D.Y., Zhang J., Xia L.Y., Oong X.Y., Ruan X.D., Shao H.Z., Que T.C., Liu G.Y., Du C.H., Huang E.J., Wang X., Du L.F., Wang C.C., Shi W.Q., Pan Y.S., Zhou Y.H., Qu J.L., Ma J., Gong C.W., Chen Q.Q., Qin Q.; Tick Genome and Microbiome Consortium (TIGMIC); Lam T.T., Jia N., Cao W.C. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(1):162–73. DOI: 10.1038/s41564-022-01275-w.
2. Wang S.S., Liu J.Y., Wang B.Y., Wang W.J., Cui X.M., Jiang J.F., Sun Y., Guo W.B., Pan Y.S., Zhou Y.H., Lin Z.T., Jiang B.G., Zhao L., Cao W.C. Geographical distribution of *Ixodes persulcatus* and associated pathogens: Analysis of integrated data from a China field survey and global published data. *One Health.* 2023; 16:100508. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100508.
3. Klimentov A.S., Belova O.A., Kholodilov I.S., Butenko A.M., Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Chernetsov N., Ivannikova A.Y., Kovalchuk I.V., Nafeev A.A., Oorzhak N.D., Pilikova O.M., Polienko A.E., Purmak K.A., Romanenko E.N., Romanova L.I.,

- Saryglar A.A., Solomashchenko N.I., Shamsutdinov A.F., Vakalova E.V., Lukashov A.N., Karganova G.G., Gmyl A.P. Phleboviruses sequences detected in ticks collected in Russia: Novel phleboviruses, distinguishing criteria and high tick specificity. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85:104524. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104524.
4. Slonchak A., Parry R., Pullinger B., Sng J.D.J., Wang X., Buck T.F., Torres F.J., Harrison J.J., Colmant A.M.G., Hobson-Peters J., Hall R.A., Tuplin A., Khromykh A.A. Structural analysis of 3'UTRs in insect flaviviruses reveals novel determinants of sfRNA biogenesis and provides new insights into flavivirus evolution. *Nat. Commun.* 2022; 13(1):1279. DOI: 10.1038/s41467-022-28977-3.
5. Kobayashi D., Murota K., Itokawa K., Ejiri H., Amano-Bosompem M., Faizah A.N., Watanabe M., Maekawa Y., Hayashi T., Noda S., Yamauchi T., Komagata O., Sawabe K., Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(2):101364. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101364.
6. Ballinger M.J., Bruenn J.A., Kotov A.A., Taylor D.J. Selectively maintained paleoviruses in Holarctic water fleas reveal an ancient origin for phleboviruses. *Virology.* 2013; 446(1-2):276–82. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.032.
7. Harvey E., Rose K., Edena J.-S., Lo N., Abeyasuriya T., Shi M., Doggett S.L., Holmes E.S. Extensive diversity of RNA viruses in Australian ticks. *J. Virol.* 2019; 93(3):e01358-18. DOI: 10.1128/JVI.01358-18.
8. Zhao T., Gong H., Shen X., Zhang W., Shan T., Yu X., Wang S.J., Cui L. Comparison of viromes in ticks from different domestic animals in China. *Virol. Sin.* 2020; 35(4):398–406. DOI: 10.1007/s12250-020-00197-3.
9. Xu L., Guo M., Hu B., Zhou H., Yang W., Hui L., Huang R., Zhan J., Shi W., Wu Y. Tick virome diversity in Hubei Province, China, and the influence of host ecology. *Virus Evol.* 2021; 7(2):veab089. DOI: 10.1093/ve/veab089.
10. Málková D., Holubová J., Kolman J.M., Marhoul Z., Hanzal F., Kulková H., Markvart K., Šimková L. Antibodies against some arboviruses in persons with various neuropathies. *Acta Virol.* 1980; 24(4):298.
11. Mazelier M., Rouxel R.N., Zumstein M., Mancini R., Bell-Sakyi L., Lozach P.-Y. Uukuniemi virus as a tick-borne virus model. *J. Virol.* 2016; 90(15):6784–98. DOI: 10.1128/JVI.00095-16.
12. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *eLife.* 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.
13. Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Молекулярная эволюция вируса Даби (*Phenuiviridae: Bandavirus: Dabie bandavirus*) – возбудителя острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(6):409–16. DOI: 10.36233/0507-4088-68.
14. Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Кривошеина Е.И., Кузнецов А.И., Глушкова Л.И., Корабельников И.В., Егорова Ю.И., Терновой В.А., Локтев В.Б. Генотипирование возбудителей клещевого энцефалита и лихорадки Кемерово в таежных клещах, собранных в Республике Коми. *Инфекция и иммунитет.* 2020; 10(1):159–66. DOI: 10.15789/2220-7619-GOT-1147.
15. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal.* 2011; 17(1):10–12. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.
16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth G., Abecasis G., Durbin R. 1000 genome project data processing subgroup. The sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25(16):2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–67. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
18. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
19. Bratuleanu B.E., Temmam S., Chrétien D., Regnault B., Pérot P., Bouchier C., Bigot T., Savuța G., Eloït M. The virome of *Rhipicephalus*, *Dermacentor* and *Haemaphysalis* ticks from Eastern Romania includes novel viruses with potential relevance for public health. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(3):1387–403. DOI: 10.1111/tbed.14105.
20. Dong Z., Yang M., Wang Z., Zhao S., Xie S., Yang Y., Liu G., Zhao S., Xie J., Liu Q., Wang Y. Human Tacheng tick virus 2 infection, China, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(2):594–8. DOI: 10.3201/eid3201/191486.

References

1. Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., Ye R.Z., Wu Y.Q., Jiang J.F., Sun Y., Wang Q., Shum M.H., Chang Q.C., Zhao L., Han X.H., Ma K., Shen S.J., Zhang M.Z., Guo W.B., Zhu J.G., Zhan L., Li L.J., Ding S.J., Zhu D.Y., Zhang J., Xia L.Y., Oong X.Y., Ruan X.D.,

Shao H.Z., Que T.C., Liu G.Y., Du C.H., Huang E.J., Wang X., Du L.F., Wang C.C., Shi W.Q., Pan Y.S., Zhou Y.H., Qu J.L., Ma J., Gong C.W., Chen Q.Q., Qin Q.; Tick Genome and Microbiome Consortium (TIGMIC); Lam T.T., Jia N., Cao W.C. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(1):162–73. DOI: 10.1038/s41564-022-01275-w.

2. Wang S.S., Liu J.Y., Wang B.Y., Wang W.J., Cui X.M., Jiang J.F., Sun Y., Guo W.B., Pan Y.S., Zhou Y.H., Lin Z.T., Jiang B.G., Zhao L., Cao W.C. Geographical distribution of *Ixodes persulcatus* and associated pathogens: Analysis of integrated data from a China field survey and global published data. *One Health.* 2023; 16:100508. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100508.

3. Klimentov A.S., Belova O.A., Kholodilov I.S., Butenko A.M., Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Chernetsov N., Ivannikova A.Y., Kovalchuk I.V., Nafeev A.A., Oorzak N.D., Pilikova O.M., Polienko A.E., Purmak K.A., Romanenko E.N., Romanova L.I., Saryglar A.A., Solomashchenko N.I., Shamsutdinov A.F., Vakalova E.V., Lukashov A.N., Karganova G.G., Gmyl A.P. Phlebovirus sequences detected in ticks collected in Russia: Novel phleboviruses, distinguishing criteria and high tick specificity. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85:104524. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104524.

4. Slonchak A., Parry R., Pullinger B., Sng J.D.J., Wang X., Buck T.F., Torres F.J., Harrison J.J., Colmant A.M.G., Hobson-Peters J., Hall R.A., Tuplin A., Khromykh A.A. Structural analysis of 3'UTRs in insect flaviviruses reveals novel determinants of sRNA biogenesis and provides new insights into flavivirus evolution. *Nat. Commun.* 2022; 13(1):1279. DOI: 10.1038/s41467-022-28977-3.

5. Kobayashi D., Murota K., Itokawa K., Ejiri H., Amoa-Bosompem M., Faizah A.N., Watanabe M., Maekawa Y., Hayashi T., Noda S., Yamauchi T., Komagata O., Sawabe K., Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(2):101364. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101364.

6. Ballinger M.J., Bruenn J.A., Kotov A.A., Taylor D.J. Selectively maintained paleoviruses in Holarctic water fleas reveal an ancient origin for phleboviruses. *Virology.* 2013; 446(1-2):276–82. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.032.

7. Harvey E., Rose K., Edena J.-S., Lo N., Abeyasuriya T., Shi M., Doggett S.L., Holmes E.S. Extensive diversity of RNA viruses in Australian ticks. *J. Virol.* 2019; 93(3):e01358-18. DOI: 10.1128/JVI.01358-18.

8. Zhao T., Gong H., Shen X., Zhang W., Shan T., Yu X., Wang S.J., Cui L. Comparison of viromes in ticks from different domestic animals in China. *Viol. Sin.* 2020; 35(4):398–406. DOI: 10.1007/s12250-020-00197-3.

9. Xu L., Guo M., Hu B., Zhou H., Yang W., Hui L., Huang R., Zhan J., Shi W., Wu Y. Tick virome diversity in Hubei Province, China, and the influence of host ecology. *Virus Evol.* 2021; 7(2):veab089. DOI: 10.1093/ve/veab089.

10. Málková D., Holubová J., Kolman J.M., Marhoul Z., Hanzal F., Kulková H., Markvart K., Simková L. Antibodies against some arboviruses in persons with various neuropathies. *Acta Virol.* 1980; 24(4):298.

11. Mazelier M., Rouxel R.N., Zumstein M., Mancini R., Bell-Sakyl L., Lozach P.-Y. Uukuniemi virus as a tick-borne virus model. *J. Virol.* 2016; 90(15):6784–98. DOI: 10.1128/JVI.00095-16.

12. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *eLife.* 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.

13. Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. [The molecular evolution of Dabie bandavirus (*Phenuiviridae: Bandavirus: Dabie bandavirus*), the agent of severe fever with thrombocytopenia syndrome]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 66(6):409–16. DOI: 10.36233/0507-4088-68.

14. Kartashov M.Y., Mikryukova T.P., Krivosheina E.I., Kuznetsov A.I., Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Egorova Yu.I., Ternovoy V.A., Loktev V.B. [Genotyping of tick-borne encephalitis and Kemerovo viruses in taiga ticks collected in the Komi Republic]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2020; 10(1):159–66. DOI: 10.15789/2220-7619-GOT-1147.

15. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal.* 2011; 17(1):10–12. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.

16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth G., Abecasis G., Durbin R. 1000 genome project data processing subgroup. The sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25(16):2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.

17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–67. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.

18. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

19. Bratuleanu B.E., Temmam S., Chrétien D., Regnault B., Pérot P., Bouchier C., Bigot T., Savuța G., Eloit M. The virome of *Rhipicephalus*, *Dermacentor* and *Haemaphysalis* ticks from Eastern Romania includes novel viruses with potential relevance for public health. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(3):1387–403. DOI: 10.1111/tbed.14105.

20. Dong Z., Yang M., Wang Z., Zhao S., Xie S., Yang Y., Liu G., Zhao S., Xie J., Liu Q., Wang Y. Human Tacheng tick virus 2 infection, China, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(2):594–8. DOI: 10.3201/eid3201/191486.

Authors:

Tupota N.L., Ternovoi V.A., Ponomareva E.P., Bayandin R.B., Shvalov A.N., Malyshev B.S., Tregubchak T.V., Bauer T.V., Protopopova E.V., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Loktev V.B. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Petrova N.K., Zhebrovskaya E.V., Burukhina E.G., Khomichuk T.F. Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory. 36 Utkinskaya St., Vladivostok, Primorsky Territory, 690091, Russian Federation. E-mail: fguz@pkprn.ru.

Об авторах:

Тупота Н.Л., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Байядин Р.Б., Швалов А.Н., Мальшеев Б.С., Трегубчак Т.В., Бауэр Т.В., Протопопова Е.В., Агафонов А.П., Максютлов Р.А., Локтев В.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Петрова Н.К., Жебровская Е.В., Бурухина Е.Г., Хомичук Т.Ф. Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае. Российская Федерация, 690091, Приморский край, Владивосток, ул. Уткинская, 36. E-mail: fguz@pkprn.ru