

ОБНАРУЖЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОГО АГЕНТА В ИКСОДОВОМ КЛЕЩЕ МЕТОДОМ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

ИЛЬИНСКИХ Н.Н.^{1,2}, ИЛЬИНСКИХ Е.Н.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Министерства образования и науки РФ, г. Томск, Россия

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия

ORIGINAL ARTICLE

CYTOGENETIC DETECTION OF INFECTIOUS AGENTS IN IXODID TICKS

NIKOLAY N. ILYINSKIKH^{1,2}, EKATERINA N. ILYINSKIKH^{1,2}

¹National Research Tomsk State University (38, Lenina Street, Tomsk, 634050), Tomsk, Russian Federation

²Siberian State Medical University (2, Moskovskiy Trakt, Tomsk, 634050), Tomsk, Russian Federation

Резюме

Цель. Использование цитогенетического метода для определения наличия в клеще инфекционного агента.

Материал и методы. Материал в виде суспензий клещей был взят для анализа в лабораториях пунктов серопрфилактики г. Томска, г. Тюмени и г. Колпашево (Томская область). Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определено наличие или отсутствие вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и (или) спирохет иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ). Суспензии, полученные из клещей, были введены в культуры лимфоцитов, полученных от здоровых доноров.

Результаты. Цитогенетическое исследование показало, что суспензии с ВКЭ и ИКБ обладают выраженным кластогенным и анеугенным эффектом. Особенно существенное повышение

числа клеток с цитогенетическими нарушениями наблюдалось при наличии в клеще обоих инфекционных агентов. Из 18 суспензий клещей, в которых методом ИФА не определялось наличие ВКЭ и возбудителя ИКБ, в 6 случаях введение суспензий в культуру клеток индуцировало существенное повышение числа клеток с хромосомными абберациями и изменениями в числе хромосом. Методом ПЦР в этих суспензиях определено наличие вируса лихорадки Западного Нила.

Заключение. Цитогенетический метод позволяет показать наличие в клеще инфекционного агента.

Ключевые слова: цитогенетический метод, иксодовые клещи, вирус клещевого энцефалита, патогенные *Borrelia*, клещевые иксодовые боррелиозы, вирус лихорадки Западного Нила.

Abstract

Aim: To test whether the cytogenetic techniques can be used for detection of infectious agents in ixodid ticks.

Materials and Methods: Suspensions of ixodid ticks were tested for encephalitis virus (TBEV)

and pathogenic *Borrelia* (PB) using enzyme-linked immunosorbent assay and then added to the lymphocytes isolated from donor peripheral blood.

Results: Suspensions of ixodid ticks with either TBEV or ITBB induced clastogenic and aneugenic effects, with the synergistic action of these two

◀ English

agents. However, one-third of samples negative for both TBEV and PB did still provoke mutagenic effects. To test whether other infectious agents may be responsible for this, we conducted polymerase chain reaction, with the successful identification of West Nile Fever virus (WNV).

Conclusion: Cytogenetic techniques can be used for the detection of TBEV, ITBB, or WNV in ixodid ticks.

Keywords: cytogenetics, ixodid ticks, tick-borne encephalitis virus, pathogenic Borrelia, Ixodes Tick-Borne Borreliosis, West Nile Fever virus

Введение

Имеются многочисленные исследования, свидетельствующие о том, что вирусы, бактерии и некоторые простейшие способны в клетках человека и животных вызывать нарушения в структуре и числе хромосом [2,8,14]. Как известно, иксодовые клещи могут являться носителями целого комплекса паразитов: вирусов клещевого энцефалита, лихорадки Западного Нила, геморрагических лихорадок, боррелий, риккетсий, бабезий и других инфекционных агентов [13,15]. Многих из них возможно типировать только в условиях высокоспециализированных вирусологических лабораторий. Поэтому в поступивших в серопрфилактические пункты клещах, присосавшихся к человеку, в основном проводится определение наличия только вируса клещевого энцефалита и гораздо реже возбудителя иксодового клещевого боррелиоза, остальные инфекционные агенты в этих условиях не определяются, хотя могут являться причиной болезни [7]. Нами было показано, что вирус клещевого энцефалита и возбудители иксодовых клещевых боррелиозов способны вызывать в условиях культуры лимфоцитов человека цитогенетические нарушения [9,10]. Аналогичные данные были получены и относительно некоторых других клещевых инфекций [11].

Цель исследования

Изучение возможного наличия инфекционных агентов методом изучения уровня цитогенетических aberrаций в культурах лимфоцитов человека, подвергнутых «заражению» суспензиями из тела клеща.

Материалы и методы

Материал в виде суспензий клещей был взят для анализа в лабораториях пунктов серопрфилактики г. Томска, г. Тюмени и г. Колпашево (Томская область), где проводился анализ клещей на присутствие в них возбудителей инфекций. Клещей при поступлении в лабораторию промывали 1 раз в этиловом спирте и 2-3 раза

в растворе Хэнкса, pH 7,2-7,4 с антибиотиками (пенициллина 500 ед./мл и стрептомицина 1000 ед./мл). Каждого клеща помещали в стерильную пластмассовую пробирку для микропроб, опускали ее в жидкий азот на 10-15 секунд, затем содержимое пробирки гомогенизировали пестиком из нержавеющей стали. После чего в пробирку добавляли 0,2 мл раствора Хэнкса с антибиотиками и альбумином. Использовался метод иммуноферментного анализа (ИФА) для определения присутствия в клеще вируса клещевого энцефалита и (или) боррелий иксодового клещевого боррелиоза. Кроме того, в ограниченном числе случаев для диагностики наличия в клеще вируса лихорадки Западного Нила была применена полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием набора «РеалБест (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Для выявления специфических последовательностей нуклеиновой кислоты вируса лихорадки Западного Нила использована пара праймеров: WN910F 5'-GGGATCCACACCATGCAGAGAGTTGTGTT-3' и WN1493R 5'-CAGCTTACAGCTTCAA CTGCCTTGGATGAGC-3 [18]. Оставшуюся суспензию сохраняли при температуре -40°C и в дальнейшем использовали в цитогенетических экспериментах.

Всего цитогенетическим методом изучено 49 суспензий иксодовых клещей. В 16 случаях в них методом ИФА определено наличие вируса клещевого энцефалита, в 10 – боррелий иксодового клещевого боррелиоза, в 5 присутствовали оба инфекционных агента, а относительно 18 в лабораториях пунктов серопрфилактики было получено заключение об отсутствии в теле клеща как вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), так и боррелий иксодового клещевого боррелиоза.

Лимфоциты человека для цитогенетического анализа культивировали стандартно [14]. В экспериментах использована кровь здоровых доноров, ранее не болевших клещевыми инфекциями, не вакцинированных против клещевого энцефалита и не проходивших медицинских процедур с рентгеновским облучением в течение

прошедшего года. Суспензии из клеща в объеме 0,1 мл вносили в 10 мл культуры через 1 сутки от начала культивирования. Приготовление препаратов для хромосомного анализа проводили рутинным методом [16]. Фиксацию культур осуществляли через 1 и 3 суток после введения суспензии. Контролем послужили лимфоциты от 11 здоровых доноров без введения в эти культуры суспензий клещей. Лимфоциты выделяли с помощью центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Raque («Pharmacia», Швеция). Культивирование осуществляли в специальных флаконах (около 2×10^6 клеток/мл), используя среду RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением антибиотиков (100 мкг/мл стрептомицина и 100 МЕ/мл пенициллина) с инкубацией при 37°C. Пролиферацию стимулировали 10 мкг/мл фитогемагглютинаина (ФГА) («ПанЭко», Россия). Блокирование делящихся клеток в метафазе осуществляли колхицином в концентрации 0,5 мкг/мл культуральной смеси. При гипотонической обработке клеток использовали 0,55% раствор хлорида калия. Клетки фиксировали холодным раствором Карнуа (три части абсолютного метилового спирта и одна часть ледяной уксусной кислоты), после чего взвесь клеток переносили на предметные стекла и высушивали феном.

Препараты окрашивали по Романовского-Гимзе. В экспериментальных и интактных культурах в каждом случае анализировали не менее 50 метафаз.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0. [12]. Все количественные показатели исследования обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Проведенное нами тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова не выявило отличий от нормального. Различия сравнимых результатов ($X \pm m$, где X – выборочное среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты цитогенетического анализа свидетельствуют о том, что суспензии с микст инфицированностью ВКЭ и ИКБ по сравнению с интактным контролем способны индуцировать в условиях культуры лимфоцитов существенное возрастание числа клеток как с аберрациями хромосом, так и с изменениями в числе хромосом (таблица 1).

Число клеток цитогенетическими нарушениями, %	Время культивирования с суспензиями	Суспензии из клещей с			Суспензии без ВКЭ и ИКБ n=18	Интактный контроль n=11
		ВКЭ	ИКБ	ВКЭ+ ИКБ		
		n=16	n=10	n=5		
Всего клеток с аберрациями хромосом	1 сутки	3,52±0,49**	1,68±0,08**	9,09±1,06**	2,50±0,12**	0,87±0,09
	3 суток	3,59±0,44**	1,76±0,04*	9,64±0,61**	2,70±0,08*	1,11±0,08
с одиночными фрагментами	1 сутки	3,10±0,24**	1,41±0,37*	6,36±0,59**	1,56±0,09**	0,48±0,01
	3 суток	3,39±0,62**	1,59±0,29**	5,39±0,24**	1,48±0,36**	0,41±0,02
с хроматидными обменами	1 сутки	0,42±0,17	0,27±0,18	1,28±0,18**	0,39±0,10	0,24±0,05
	3 суток	1,20±0,10**	0,17±0,11	0,99±0,18**	0,29±0,12	0,29±0,02
с двойными фрагментами	1 сутки	0,03±0,01	0,04±0,03	0,24±0,21**	0,08±0,06	0,04±0,01
	3 суток	0,04±0,02	0,02±0,01	0,78±0,14**	0,02±0,01	0,08±0,04
с хромосомными обменами	1 сутки	0,02±0,01	0,01±0,01	0,03±0,02	0,05±0,03	0,02±0,01
	3 суток	0,03±0,02	-	0,08±0,05	0,11±0,04	0,03±0,01
с моносомиями	1 сутки	0,30±0,11	0,19±0,14	0,48±0,24	0,27±0,04*	0,21±0,11
	3 суток	1,12±0,05**	1,76±0,14*	2,33±0,18**	1,29±0,05*	0,32±0,12
с трисомиями	1 сутки	0,09±0,04	0,11±0,09	0,06±0,02	0,19±0,03	0,02±0,04
	3 суток	0,51±0,07**	0,08±0,07	1,36±0,11**	0,08±0,05	0,04±0,01
с полиплоидным набором хромосом	1 сутки	0,05±0,07	0,09±0,04	0,09±0,03	0,06±0,04	0,03±0,02
	3 суток	0,04±0,08	0,48±0,10**	1,22±0,09**	0,29±0,07**	0,04±0,02
Всего клеток с цитогенетическими нарушениями	1 сутки	8,92±1,11**	3,55±0,40	12,32±1,56	2,26±0,08**	1,02±0,04
	3 суток	6,76±1,58**	3,20±0,67	13,24±1,46	3,16±0,26**	1,24±0,04

Таблица 1. Число лимфоцитов с хромосомными нарушениями ($X \pm m$) в культурах лимфоцитов после введения суспензий из клещей, инфицированных и не инфицированных ВКЭ и боррелиями – возбудителями иксодового клещевого боррелиоза

Table 1. Lymphocytes with chromosomal aberrations after incubation with either infected or non-infected suspensions

Примечание: ВКЭ – вирус клещевого энцефалита, ИКБ – боррелии иксодового клещевого боррелиоза. Значимые отличия уровня цитогенетических нарушений при сравнении с интактным контролем отмечены звездочками: одной – при $p < 0,05$, двумя – при $p < 0,01$.

Note: TBEV is for tick-borne encephalitis virus, PB is for Ixodes Tick-Borne Borreliosis, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Спектр абберации не отличался от показателей экспериментов наблюдаемых нами при заражении культур лимфоцитов человека нативными штаммами ВКЭ и ИКБ [6, 9]. В то же время, число клеток с цитогенетическими нарушениями существенно различалось в культурах, зафиксированных после введения суспензий через 1 и 3 суток. В первом случае отмечено увеличение только числа клеток с абберациями хромосом, а через 3 суток существенно повышается также и число анеуплоидных и полиплоидных клеток. При моноинфекции ВКЭ в суспензиях клещей в «зараженных» культурах наблюдалось возрастание количества клеток с одиночными фрагментами. На 3 сутки в наших экспериментах повышалось число клеток с хроматидными обменами и анеуплоидным набором хромосом. Изменений в числе клеток с хромосомными фрагментами и обменами, а также с полиплоидией в этом случае не зарегистрировано. Известно, что хроматидные разрывы и фрагменты являются наиболее часто встречающимся типом хромосомных аббераций, возникающих под действием различных инфекционных агентов, включая вирусы гриппа, клещевого энцефалита, кори, а также некоторых бактерий – шигелл, сальмонелл и микоплазм [2,11], что объясняется вмешательством инфекционного агента в процессы репликации ДНК или же стимуляцией лизосомальных нуклеаз [11]. Анеуплоидия возникает в результате неправильной сегрегации хроматид хромосом при делении клетки и нарушения распределения наследственного материала между дочерними клетками. Известно, что анеугенными факторами являются множество химических соединений (винбластин, колхицин, гризеофульвин, органические соединения ртути и др.), некоторые инфекционные агенты (вирусы, микобактерии туберкулеза, токсоплазмы), а также ионизирующее излучение [7, 20]. Меньшие, но значимые, изменения в культурах индуцировали суспензии, содержащие боррелии. В этом случае помимо клеток с одиночными фрагментами, моносомиями существенно возрастает на 3 сутки и число полиплоидных клеток. Это соответствует результатам исследований, проведенных нами [6] и другими учеными [17] при изучении кариотипа инфицированных ИКБ. Полиплоидия, как известно, может быть следствием эндоредупликации или блокирования цитокиназа [20]. Многие инфекционные агенты облада-

ют способностью индуцировать эти процессы [2]. Особое внимание привлекают результаты анализа культур с введением суспензий, в которых не были обнаружены ВКЭ и ИКБ. Здесь, хотя и в меньшей степени, чем в других вариантах эксперимента, отмечается возрастание числа клеток с одиночными фрагментами хромосом, а на 3 сутки клетки еще и с моносомиями и полиплоидией. Анализ результатов показал существенные отличия в результатах этого эксперимента, поскольку такое повышение было связано в основном с образцами суспензий, полученными из 6 клещей из 18 суспензий этой группы. Выделение их в особую группу позволило установить, что число клеток с хромосомными абберациями по сравнению с исходным уровнем для этой группы возрастает в 4,5 раз ($12,7 \pm 1,5\%$; $p < 0,01$), а с измененным числом хромосом – в 3,2 раза ($6,34 \pm 1,2\%$; $p < 0,01$). Проведенное типирование предполагаемого инфекционного агента с использованием ПЦР анализа показало присутствие в суспензиях этих клещей вируса лихорадки Западного Нила. По мнению некоторых ученых [4, 5], течение заболевания, вызванного вирусом лихорадки Западного Нила, протекает практически идентично с клещевым энцефалитом. По-видимому, это связано с генетическим родством этих двух флавивирусов [3], но при этом вакцинация против ВКЭ не способствует развитию иммунитета и не защищает человека от инфекции, вызванной ВЗН [19]. Особую группу могут составить пациенты с микст-инфекцией. Поскольку у подвергшихся нападению клеща пациентов ВЗН не определяется, то вполне возможно, что этот вирус присутствует и у лиц с диагнозом клещевой энцефалит и (или) клещевой боррелиоз, что может существенно изменить течение инфекции.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и частично РГНФ. Грант РГНФ № 06-15-10190. Грант РФФИ № 16-44-700149

Заключение

Добавление в культуры лимфоцитов здоровых людей суспензий, содержащих ВКЭ и боррелии - возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов, приводит к выраженным кластогенным и анеугенным эффектам. В 6 из 18 исследуемых суспензий, где эти инфекционные агенты не были выявлены, методом ПЦР определено присутствие вируса лихорадки Западно-

го Нила. Введение этих суспензий в культуры лимфоцитов приводило к существенному возрастанию числа клеток с нарушениями в структуре и числе хромосом. Поскольку клещи могут содержать большое количество различных инфекционных агентов, определение которых возможно только в высокоспециализирован-

ных лабораториях, предлагается использовать метод индикации цитогенетических нарушений для определения наличия в нападшем на человека клеще, редко встречаемых инфекционных агентов, способных вызвать у человека заболевание.

Литература / References:

1. Blumkin VM, Zhdanov VN. Impact of viruses on the chromosome apparatus of cell. M.: Medicine, 1973. 246p. Russian (Блюмкин В.Н., Жданов В.М. Влияние вирусов на хромосомный аппарат клетки. М.: Медицина, 1973. 268 с.)
2. Borovikov VP, Borovikov LP. Statistical analysis and data processing in Windows. M: Filin, 1997. 246 p. Russian (Боровиков В.П., Боровиков Л.П. Статистический анализ и обработка данных в среде «Windows». М.: «Филинь», 1997. 608 с.)
3. Burke DS, Monath TP. Flaviviruses. In Knipe, D.M. and Howley, P.M. (eds), Fields Virology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001, 1043-125 pp.
4. Calisher CH, Karabatsos N. Arbovirus serogroups: definition and geographic distribution. The arboviruses: epidemiology and ecology. Ed. P. Monath. Boca Raton (FL): CRC Press, 1988; 1: 19-57.
5. Dekonenko EP, Larichev VF, Butenko AM, Zorinev AB, Malyshev NA. Severe form of encephalitis caused by West Nile virus. Neurological journal. 2002;7 (6): 19-22. Russian (Деконенко Е.П., Ларичев В.Ф., Бутенко А.М., Зоринев А.Б., Мальшев Н.А. Тяжелая форма энцефаломиелита, вызванная вирусом Западного Нила // Неврологический журнал. 2002. Т.7, №6. С.19-22.)
6. Ilyinskikh IN, Ilyinskikh EN, Semenov AG, Cherednikova EA, Puchkova N. Cytogenetic status and 9 chromosome polymorphism in patients with Lyme disease. Herald of the Novosibirsk State University. Biology and Clinical Medicine. 2012;10 (3): 87-94. Russian (Ильинских Е.Н., Ильинских И.Н., Семенов А.Г., Чередникова Е.А., Пучкова Н.Н. Цитогенетический статус и полиморфизм хромосомы 9 у больных с иксодовым клещевым боррелиозом // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2012. Т. 10. Вып. 3. С. 87-94.)
7. Ilyinskikh NN, Choinzonov EL, Lebedev IN, Yasikov EG, Melnikov AA, Vasiliev SA, Ilyinskikh EN. Cytogenetic effects of radiation and chemical effects on humans. Tomsk: National Research Tomsk Polytechnic University, 2014: 420. Russian (Ильинских Н.Н., Чойнзонов Е.Л., Лебедев И.Н., Язиков Е.Г., Мельников А.А., Васильев С.А., Ильинских Е.Н. Цитогенетические последствия радиационных и химических воздействий на человека. Томск: Изд-во Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2014. 420 с.)
8. Ilyinskikh IN, Novitsky VV, Ilyinskikh EN, Ilyinskikh NN, Tkachenko SB. Infectious karyopathology. Tomsk: Tomsk State University Publishing House, 2005. 168 p. Russian (Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ильинских Е.Н., Ильинских И.Н., Ткаченко С.Б. Инфекционная кариопатология. Томск: Изд-во ТГУ, 2005. 168 с.)
9. Ilyinskikh NN, Zagromov EJ, Lepekhin AV. The analysis of some indices of immune response, DNA repair, and micronuclei content in cells from tick-borne encephalitis patients. Acta Virol. 1990; 34 (6): 554-562.
10. Ilyinskikh NN, Ilyinskikh IN. Effects of virus of tick-borne encephalitis on the chromosome apparatus of human cells. Cytology and Genetics. 1976; 10 (4): 331-333. Russian (Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н. Влияние вируса клещевого энцефалита на хромосомный аппарат клеток человека // Цитология и генетика. 1976. Т.10, №4. С. 331-333).
11. Ilyinskikh NN, Ilyinskikh IN, Ilyinskikh EN. Infectious mutagenesis: cytogenetic effects in human and animal cells as well as immunoreactivity induced by viruses, bacteria and helminthes. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 224 p.
12. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989. 846 pp.
13. Ivanova NV. Role of small mammals in areas of natural infection in the anthropogenically transformed territory Southeast of West Siberia. Abstract of PhD Thesis. Tomsk, 2009. 21p. Russian (Иванова Н.В. Роль мелких млекопитающих в очагах природных инфекций на антропогенно трансформированной территории юго-востока Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2009. 21с.)
14. Moorhead PS, Nowel PC, Mellman WJ, BattipsDM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell Res. 1960; 20: 613-616.
15. Moskvitina NS, Romanenko VN, Ternovoy VA, Ivanova NV, Protopopova EV, Kravchenko LB et al. Detection of West Nile Fever virus and its genotyping in ixodid ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Tomsk and its suburbs. Parasitology. 2008; 42 (3): 210-225. Russian (Москвитина Н.С., Романенко В.Н., Терновой В.А., Иванова Н.В., Протопопова Е.В., Кравченко Л.Б. с соавт. Выявление вируса Западного Нила и его генотипирование в иксодовых клещах (Parasitiformes: Ixodidae) в Томске и его пригородах // Паразитология. 2008. Т.42, №3. С. 210-225).
16. Nichols WW. Relationship of viruses, chromosomes and carcinogenesis. Hereditas. 1963; 50: 53-80.
17. Pirogov NP, Novitsky VV, Hlusova MYu, Voronkov OV, Karpova M.R, Lukashova LV. Cytogenetic status and phenotypic features of peripheral blood lymphocytes in patients with tick-borne ixodid borreliosis. The Siberian Bulletin of Medicine. 2005;4 (3): 43-48. Russian (Пирогова Н.П., Новицкий В.В., Хлусова М.Ю., Воронкова О.В., Карпова М.Р., Лукашева Л.В. Цитогенетический статус и фенотипические свойства лимфоцитов периферической крови у больных иксодовым клещевым боррелиозом // Бюллетень сибирской медицины. 2005. Т.4, №3. С. 43-48).

18. Ternovoy VA, Selkanov MYu, Shestopalov AM., Aristova VA, Protopopova EV, Gromashevsky VL et al. Detection of West Nile virus in birds in the territory of the Barabinskaya and of the Kulundinskaya lowlands (West-Siberian migratory path) in the summer-autumn period 2002. *Questions of Virology*. 2004; 49 (3): 52-60. Russian (Терновой В.А., Щелканов М.Ю., Шестопалов А.М., Аристова В.А., Протопопова Е.В., Громашевский В.Л. с соавт. Выявление вируса Западного Нила у птиц на территории Барабинской и Кулундинской низменностей (Западно-Сибирский перелетный путь) в летне-осенний период 2002 г. // Вопросы вирусологии. 2004. Т.49, №3. С. 52-60).

19. Ternovoy VA, Protopopova EV, Kononova YuV, Ol'hovikova EA, Spiridonova EA, Akopov GD et al. Identification of cases of West Nile fever infection in the Novosibirsk region in 2004 year and genotyping of this virus caused the disease. *RAMS*. 2007; (1): 21-26. Russian (Терновой В.А., Протопопова Е.В., Кононова Ю.В., Ольховикова Е.А., Спиридонова Э.А., Акопов Г.Д. с соавт. Выявление случаев лихорадки Западного Нила в Новосибирской области в 2004 году и генотипирование вируса, вызвавшего заболевания // Вестн. РАМН. 2007. №1. С. 21-26).

20. Timoshevski VA, Nazarenko SA. Criteria to assess the frequency of aneuploidy in interphase nuclei of cells using FISH analysis. *Cytology*. 2005; 47 (6): 526-532. Russian (Тимошевский В.А., Назаренко С.А. Критерии оценки частоты анеуплоидии в интерфазных ядрах клеток с помощью FISH-анализа // Цитология. 2005. Т. 47, №6. С. 526-532.)

Сведения об авторах

Ильинских Николай Николаевич, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, Томск, Россия

Ильинских Екатерина Николаевна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Корреспонденцию адресовать:

Ильинских Николай Николаевич,
а/я 808, г.Томск, 634050,
Тел.: +79095408617; +7(3822) 413679
E-mail: nauka-tomsk@yandex.ru

Authors

Prof. Nikolay N. Ilyinskikh, MD, PhD, Head of the Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation; Professor, Department of Environmental Management, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Contribution: conceived and designed the study; performed a cytogenetic analysis.

Prof. Ekaterina N. Ilyinskikh, MD, PhD, Professor, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Contribution: collected the biological specimens and performed a cytogenetic analysis.

Corresponding author:

Prof. Nikolay N. Ilyinskikh,
PO box 808, Tomsk-50, 634050,
Russian Federation
E-mail: nauka-tomsk@yandex.ru

Acknowledgements: This study was financially supported by grants RHSF 15-06-10190 and RFBR 16-44-700149.