

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ЛИХОРАДКИ КЕМЕРОВО В ТАЕЖНЫХ КЛЕЩАХ, СОБРАННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ КОМИ

М.Ю. Карташов^{1,2}, Т.П. Микрюкова¹, Е.И. Кривошеина^{1,2}, А.И. Кузнецов^{1,2},
Л.И. Глушкова³, И.В. Корабельников⁴, Ю.И. Егорова⁴, В.А. Терновой¹, В.Б. Локтев^{1,2,5}

¹ ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия

² ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск, Россия

³ Управление Роспотребнадзора по Республике Коми, г. Сыктывкар, Россия

⁴ ФГУП «Дезинфекция» Роспотребнадзора, г. Сыктывкар, Россия

⁵ ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Резюме. В последние годы регистрируется резкий рост случаев укусов иксодовыми клещами в северных регионах Европейской части России. В Республике Коми также резко увеличилось число лиц, обратившихся за медицинской помощью в связи с укусом клеща. Одновременно наблюдается рост заболеваемости клещевым энцефалитом, который особенно усилился с 2009 г. Информация о генетическом разнообразии возбудителей вирусных клещевых инфекций в этом регионе крайне ограничена. С целью идентификации и генотипирования возбудителей вирусных клещевых инфекций проведено исследование клещей *I. persulcatus*, собранных с растительности в южных и центральных районах Республики Коми. Методом ПЦР был выявлен генетический материал вирусов клещевого энцефалита и Кемерово в индивидуальных клещах. Секвенирование фрагментов генома этих вирусов позволило однозначно их идентифицировать. Генетический материал вируса клещевого энцефалита был выявлен в $6,8 \pm 1,2\%$ случаев. Генотипирование выявленных изолятов, проведенное на основе анализа нуклеотидной последовательности фрагмента гена белка E вируса клещевого энцефалита, позволило установить, что 35% изолятов относятся к дальневосточному генотипу, а 65% — к сибирскому генотипу вируса клещевого энцефалита. Филогенетический анализ секвенированных последовательностей показал наличие не менее четырех геновариантов сибирского и дальневосточного генотипов вируса клещевого энцефалита, близких к вариантам этого вируса, циркулирующим на Урале и в Сибири. Уровень инфицированности таежного клеща вирусом Кемерово составил $0,8 \pm 0,2\%$. Определение нуклеотидной последовательности фрагмента гена РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса Кемерово позволило установить, что обнаруженный генетический материал вируса Кемерово имеет уровень гомологии приблизительно 94% при сравнении с другими известными последовательностями этого орбивируса. Филогенетический анализ фрагментов генома вируса Кемерово показал наличие не менее двух геновариантов этого вируса, циркулирующих в Республике Коми. Высказано предположение, что вирус клещевого энцефалита был относительно недавно интродуцирован в природные очаги Республики Коми из Уральского и Сибирского регионов. Генетические отличия вируса Кемерово предполагают более длительную эволюцию в исследованных природных очагах этого региона. Обсуждается возможная роль птиц и клещей, паразитирующих на них, в быстром рас-

Адрес для переписки:

Карташов Михаил Юрьевич
630559, Россия, Новосибирская область, п.г.т. Кольцово,
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 923 419-31-92 (моб.). Факс: 8 (383) 336-74-09.
E-mail: mikkartash@yandex.ru

Contacts:

Mikhail Yu. Kartashov
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region, Koltsovo,
State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector".
Phone: +7 923 419-31-92 (mobile). Fax: +7 (383) 336-74-09.
E-mail: mikkartash@yandex.ru

Библиографическое описание:

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. Т. 10, № 1. С. 159–166.
doi: 10.15789/2220-7619-GOT-1147

Citation:

Kartashov M.Yu., Mikryukova T.P., Krivosheina E.I., Kuznetsov A.I., Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Egorova Yu.I., Ternovoi V.A., Loktev V.B. Genotyping of tick-borne encephalitis and Kemerovo viruses in taiga ticks collected in the Komi Republic // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 159–166. doi: 10.15789/2220-7619-GOT-1147

пространении вирусных клещевых инфекций в Республике Коми. Данные по генетическому разнообразию выявленных возбудителей клещевого энцефалита и лихорадки Кемерово могут быть полезны для улучшения диагностики, профилактики и лечения этих инфекционных заболеваний в Республике Коми.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, вирус Кемерово, *Ixodes persulcatus*, Республика Коми, генотипирование, ПЦР-диагностика.

GENOTYPING OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND KEMEROVO VIRUSES IN TAIGA TICKS COLLECTED IN THE KOMI REPUBLIC

Kartashov M.Yu.^{a,b}, Mikryukova T.P.^a, Krivosheina E.I.^{a,b}, Kuznetsov A.I.^{a,b}, Glushkova L.I.^c, Korabel'nikov I.V.^d, Egorova Yu.I.^d, Ternovoi V.A.^a, Loktev V.B.^{a,b,e}

^a State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

^b Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

^c Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protections and Human Well-Being, Department of the Komi Republic, Syktyvkar, Russian Federation

^d "Disinfection", Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protections and Human Well-Being, Syktyvkar, Russian Federation

^e Institute of Cytology and Genetics the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Over the last years, an increasing rate of ixodes tick bites has been registered in the northern regions of the European Russia. In addition, the number of subjects request medical assistance due to tick bites has been dramatically increased in the Komi Republic. In addition, incidence of tick-borne encephalitis was also increased particularly starting since 2009. However, highly limited data on pathogen genetic diversity related to viral tick-borne infections in this region are currently available. Taiga ticks (*Ixodes persulcatus*) collected from the Komi Republic southern and central part vegetation were examined to identify and genotype tick-borne viruses. Individual ticks were used to identify by RT-PCR viral RNA coupled to tick-borne encephalitis and Kemerovo viruses. Viral genome fragment sequencing allowed to unambiguously identify these viruses. It was found that viral RNA tick-borne encephalitis was detected in $6.8 \pm 1.2\%$ individual ticks. Moreover, tick-linked isolate genotyping based on analyzing E protein gene fragment nucleotide sequence derived from tick-borne encephalitis discovered that 35% and 65% isolates belonged to the Far Eastern and Siberian subtype, respectively. In addition, subsequent phylogenetic analysis demonstrated that at least four variants of the Siberian and Far Eastern subtypes of tick-borne encephalitis virus were detected, which were close to the viruses circulating in the Urals and Siberia. In contrast, prevalence of Kemerovo virus in taiga ticks was $0.8 \pm 0.2\%$. Sequencing of Kemerovo virus RNA-dependent RNA polymerase gene fragment showed around 94% homology with the remainder of the Kemerovo virus strains. Phylogenetic analysis of the Kemerovo virus genome fragments demonstrated at least two subtypes circulating in the Komi Republic. Thus, it was suggested that tick-borne encephalitis virus was introduced relatively recently from the Urals and Siberian region into the natural foci of the Komi Republic. Moreover, genetic differences found in Kemerovo virus strains presume for them a longer lasting evolution throughout the natural foci of this region. In addition, a potential role for birds and their ticks in rapid spreading of viral tick-borne infections in the Komi Republic is also discussed. Thus, the data on genetic diversity of the viral agents related to tick-born encephalitis and Kemerovo fever may be useful for improving their diagnostics, prevention and treatment in the Komi Republic.

Key words: tick-borne encephalitis virus, Kemerovo virus, *Ixodes persulcatus*, Komi Republic, genotyping, PCR detection.

Введение

Изменение ареалов распространения иксодовых клещей и распространение ими различных возбудителей вирусных инфекций делают проблему клещевых вирусных инфекций актуальной для большинства европейских стран [9, 11]. В последние годы регистрируется резкий рост случаев укусов иксодовыми клещами в северных регионах Европы [1, 2, 17]. Отмечен рост заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) и клещевым боррелиозом в Архангельской области и Республике Коми. Так, в период с 1992 по 2011 гг. в Республике Коми число лиц, обратившихся за медицинской помощью в связи с укусом клеща, возросло в 23 раза, а период активности клещей расширился с четырех месяцев до шести (с апреля по сентябрь) [18]. Заболеваемость КЭ на территории Коми непре-

рывно растет с 1970 г., причем наиболее значительный подъем заболеваемости наблюдается после 2009 г. Проведенное в 2010 г. генотипирование вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в таежных клещах выявило преимущественную циркуляцию дальневосточного генотипа ВКЭ [14]. Это позволило считать, что КЭ стал новой клещевой вирусной инфекцией для северных районов европейской части России.

Другим вирусным агентом, ассоциированным с иксодовыми клещами, является представитель рода *Orbivirus* — вирус Кемерово (КЕМВ). Ранее, КЕМВ был выделен из иксодовых клещей на различных территориях средней полосы России в Сибири (Кемеровская, Новосибирская, Омская, Иркутская области, Республика Алтай), на Урале (Свердловская, Курганская области, Республика Удмуртия), а также в европейской части России (Московская, Костромская, Вологодская облас-

ти) [4, 6, 16]. Вирус Кемерово вызывает заболевание человека, характеризующееся резким повышением температуры, появлением сыпи и развитием неврологических расстройств. В тяжелых случаях возможно развитие миокардита и менингоэнцефалита. В настоящее время диагностика этого заболевания у человека затруднена отсутствием доступных диагностических средств, что маскирует данную вирусную клещевую инфекцию среди других вирусных и бактериальных инфекций человека. Факты циркуляции KEMV и случаи заболевания человека лихорадкой Кемерово в северных районах европейской части России ранее были не известны.

В данной работе методами генетической диагностики оценено наличие циркуляции ВКЭ и KEMV в таежных клещах на территории Республики Коми, а также приведена попытка оценить возможное генетическое разнообразие возбудителей этих вирусных клещевых инфекций, провести их генотипирование и выявить возможные эволюционные взаимосвязи этих вирусных агентов с циркулирующими в других регионах ВКЭ и KEMV.

Материалы и методы

В исследование были взяты 380 клещей вида *I. persulcatus* (самки — 185 особей, самцы — 174, нимфы — 21), собранных в 2016 г. с растительности в южных и центральных районах Республики Коми, где наиболее часто регистрируются случаи присасывания клещей. Определение видовой принадлежности клещей осуществляли по морфологическим признакам с последующей верификацией путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента (660 п.н.) гена, кодирующего субъединицу I цитохромоксидазы в митохондриальном геноме клеща. Гомогенизацию клещей проводили на лабораторном гомогенизаторе TissueLyser

(Qiagen, Германия) в 300 мкл стерильного физраствора. Выделение суммарных нуклеиновых кислот производили с использованием набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (Некстбио, Россия) согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции осуществляли с помощью набора «Реверта-100» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Выявление генетических маркеров ВКЭ и KEMV проводили методом ПЦР с использованием ПЦР-смеси «БиоМастер HS-Тақ» (Биолабмикс, г. Новосибирск, Россия) и олигонуклеотидных праймеров, комплементарных исследуемым локусам (табл.).

Определение нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР, очищенных на микроколонках (Биосилика, г. Новосибирск, Россия), проводили с использованием набора BigDye™ Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Анализ полученных нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программ Unipro UGENE v. 1.30 [15] и MEGA7 [12]. Построение филогенетических деревьев проводили методом максимального правдоподобия. Статистические индексы поддержки ветвей были получены с помощью bootstrap-анализа для 1000 итераций.

Установленные нуклеотидные последовательности зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами MK304517-MK304519 (для изолятов KEMV) и MK304520-MK304545 (для изолятов ВКЭ).

Результаты

Генетический материал ВКЭ был обнаружен в 26 из 380 исследованных клещей *I. persulcatus*. Таким образом, вирусофорность клещей составила $6,8 \pm 1,2\%$. Генотипирование выявленных изолятов ВКЭ было проведено путем определе-

Таблица. Олигонуклеотидные праймеры, использованные для выявления генетического материала ВКЭ и KEMV

Table. Oligonucleotide primers used to detect genetic material of the TBEV and KEMV

Мишень Target	Название Abbreviation	Структура праймера (5'→3') Structure of primers	Размер ампликона (п.н.) Amplicon size (b.p.)	Температура отжига Temperature of reaction	Ссылка References
<i>Ixodes</i> spp. (gene COI)	IpCX-6f	ATTAGGAGCACCTGATATAGCTTTCCC	660	62	Данная работа This investigation
	IpCX-9r	GCTGTAATAAGCTCGAGTGTGCGATA			
KEMV (сегмент 1, ген полимеразы) KEMV (segment 1, RNA polymerase)	rt_Kem4f	TCCGCCACCCTGGAATGAGAC	116	60	[6]
	rt_Kem4r	TCAGGATCGGTCAAGGCCATTC			
	Kem_prb4	FAM-AGCCGTTTCTGTCCACGAGACG-BHQ1	170	58	Данная работа This investigation
	Kem_F64	TGAGCGGATAACAATTTACACAC			
Kem_R234	GTCATTACTGGATCTATCAACAGG				
ВКЭ TBEV (E-NS1)	E7	GGCATAGAAAGGCTGACAGTG	340	52	[16]
	E10	GATACCTCTCTCCACACAACCAG			
	E9	ACAGTGATAGGAGAACACGCTGGG	210	52	
	E8	CAGCCAGGAGGAAGCTCATGGAC			

ния нуклеотидной последовательности фрагмента гена E (210 п.н.). Девять изолятов (35%) были отнесены к дальневосточному генотипу, а 17 (65%) — к сибирскому генотипу ВКЭ. Генетический материал ВКЭ был обнаружен как у самок (69%), так и у самцов (31%), инфицированных нимф выявлено не было. Анализ филогенетических взаимоотношений изучаемых изолятов показал циркуляцию на территории Коми

различных генетических вариантов ВКЭ (рис. 1). Все исследованные образцы оказались оригинальными и не имели 100% гомологии с уже известными вирусными штаммами сибирских и дальневосточных генотипов ВКЭ.

Восемь изолятов ВКЭ дальневосточного типа кластеризовались с прототипными штаммами 205 (DQ989336), Novosibirsk-L2008 (KJ739729), Tomsk-PT12 (KM019546) и имели уровень го-

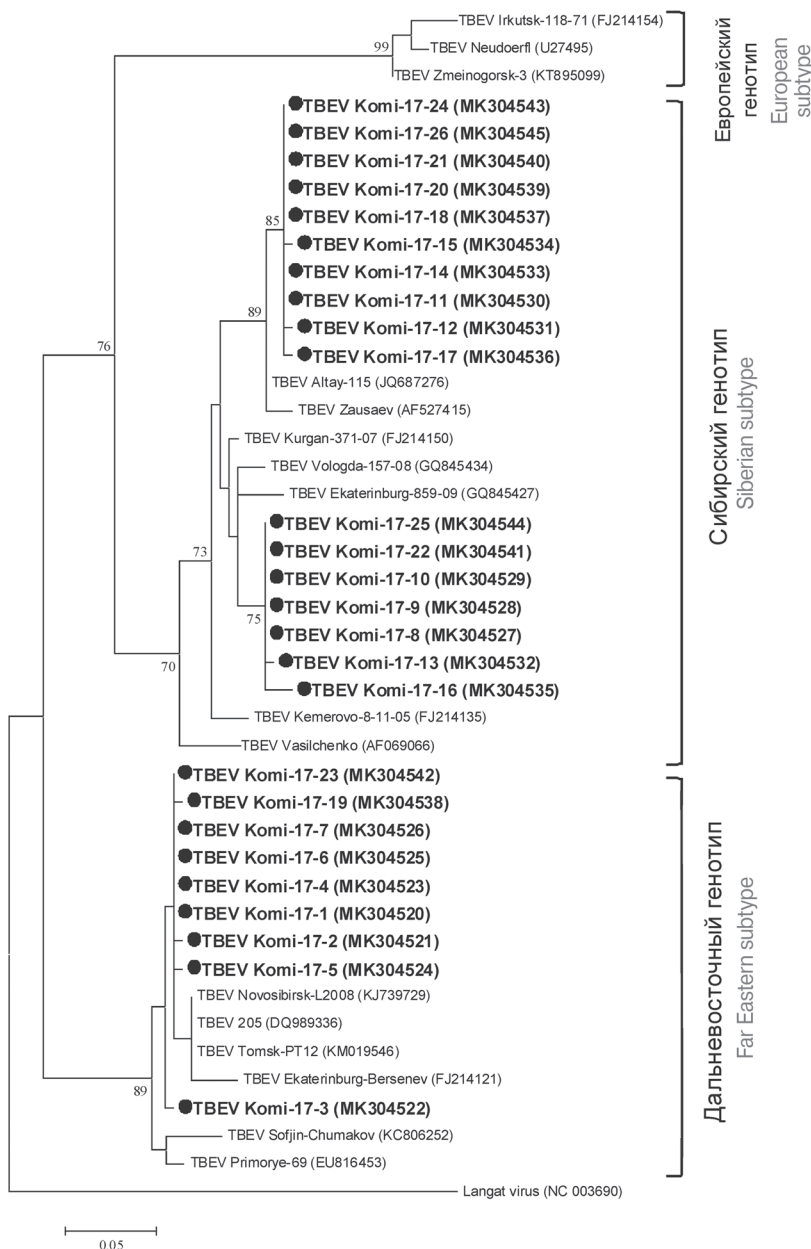


Рисунок 1. Филогендрограмма, отображающая генетическую близость исследуемых изолятов ВКЭ (●) и известных прототипных штаммов ВКЭ, представляющих три основных генотипа ВКЭ

Figure 1. Phylogenetic tree demonstrating genetic proximity in TBEV isolates (●) and the three main subtypes for TBEV prototype strains

Примечание. Филогенетическое дерево построено на основе фрагмента (210 п.н.) структурного гена E с использованием метода максимального правдоподобия, модель эволюции GTR+I+G, индексы поддержки рассчитаны для 1000 повторов. В качестве внешней группы сравнения использовался вирус Лангат.

Note. Based on the structural E gene fragment (210 b.p.) by using the maximum likelihood estimation, GTR+I+G evolution model, support indices calculated per 1000 repetitions. Langat virus was used as an external comparison group.

мологии с ними 99,0%. Изолят Komi-17-3 формировал отдельную ветвь в пределах кластера дальневосточного генотипа и имел наибольший уровень гомологии с прототипным штаммом Tomsk-PT12, выделенным от садовой камышовки (*Acrocephalus dumetorum*) на территории Томской области (уровень гомологии 98,2%).

Изучаемые изоляты ВКЭ сибирского генотипа четко расхолились на две отдельные субклады в пределах сибирского генотипа. Десять изолятов входили в субкладу, сформированную прототипным штаммом Заусаев (AF527415). Семь выявленных изолятов образовывали отдельную субкладу и показывали наибольшую гомологию с вариантами ВКЭ, обнаруженными в Екатеринбурге (GQ845427) — 98,2%, Вологде — 97,5% (GQ845434) и в Кургане (FJ214150) — 97,2%.

При скрининге 380 образцов кДНК исследуемых клещей было выявлено 3 положительных пробы, содержащих генетический материал КЕМV. Таким образом, уровень инфицированности таежных клещей КЕМV составил $0,8 \pm 0,2\%$. Все клещи, в которых был выявлен КЕМV, являлись самками. Для выявленных изолятов КЕМV были определены нуклеотидные последовательности фрагмента сегмента 1 (255 п.н.), кодирующего РНК-зависимую РНК-полимеразу. На основании полученных данных было построено филогенетическое дерево (рис. 2) и проведено сравнение с известными последовательностями КЕМV и других близкородственных вирусов, депонированными в международной базе данных GenBank NCBI. Результаты филогенетического анализа подтвердили таксономическую принадлежность выявленных изолятов к КЕМV. Изоляты Komi-1 и Komi-2 идентичны между собой по данному участку генома и отличаются от изолята Komi-3 семью нуклеотидными заменами (уровень гомологии — 97,3%), которые приводят в конечном счете к 4 аминокислотными заменам. Выявленные изоляты КЕМV, циркулирующие на территории Республики Коми, формировали отдельную ветвь в пределах клады, сформированной прототипными штаммами КЕМV. Уровень гомологии нуклеотидных последовательностей этих же изолятов в Республике Коми, в сравнении с другими известными последовательностями КЕМV, составил приблизительно 94%.

Обсуждение

На территории северной Евразии ВКЭ представлен несколькими генотипами, каждый из которых при попадании в организм человека может вызывать заболевания разной степени тяжести. Обычно ВКЭ подразделяют на 3 основных генотипа — дальневосточный, сибирский и европейский [8]. Недавно было сформулировано предложение о выделении байкальского и гималайского генотипов ВКЭ [5]. В таежных кле-

щах, собранных с растительности в Республике Коми, к дальневосточному генотипу было отнесено 35%, а к сибирскому генотипу — 65% секвенированных последовательностей РНК из изолятов ВКЭ. Нам не удалось выявить у собранных таежных клещей генетический материал, свойственный европейскому, байкальскому и гималайскому генотипам ВКЭ.

Большая часть выявленных образцов сибирского генотипа ВКЭ может быть отнесена к генотипу Заусаев-подобных штаммов. Данная группа ВКЭ интересна тем, что прототипный для этой группы штамм Заусаев был выделен из мозга погибшего в 1985 г. 34-летнего пациента с хроническим клещевым энцефалитом, который был атакован клещом в Томской области в 1973 г. [10]. Причем у пациента после укуса клеща не было зарегистрировано развития острого клещевого энцефалита. Развитие клинически выраженного энцефалита началось приблизительно через 10 лет после укуса клеща, что привело к гибели пациента спустя два года от хронического клещевого энцефалита. Гипотеза о способности штамма Заусаев вызывать хронические формы клещевого энцефалита, к сожалению, опирается на отрывочные и неполные данные. Это, по всей вероятности, связано с крайне длительным инкубационным периодом данного заболевания, что, видимо, не позволяет связать возможные поражения ЦНС у пациента с укусом клеща, который имел место многие годы назад.

Эпидемиологическая значимость распространения дальневосточного генотипа ВКЭ связана с его высокой патогенностью для человека по сравнению с другими генотипами ВКЭ. Дальневосточный генотип ВКЭ вызывает тяжелые вирусные энцефалиты и менингоэнцефалиты со смертностью до 30% [10]. Распространение дальневосточного генотипа ВКЭ, а также возможность появления хронических форм КЭ требует особого внимания к диагностике и профилактике данного заболевания в Республике Коми.

Проведенный филогенетический анализ показывает кластеризацию изолятов ВКЭ на 4 генотипы. Два генотипа сибирского генотипа взаимосвязаны с теми вариантами ВКЭ, которые циркулируют в Уральском регионе, на юге Западной Сибири и Алтае. Варианты дальневосточного генотипа близки к вариантам ВКЭ этого субтипа, циркулирующим на юге Западной Сибири. Формирование четырех генотипов ВКЭ позволяет сделать предположение, что занос ВКЭ на территорию Республики Коми имел место не менее 4 раз, причем ВКЭ преимущественно распространялся с восточных регионов РФ, с районов Урала и Сибири, где циркулируют подобные штаммы ВКЭ. Интересно отметить, что аналогичные штаммы дальневосточного генотипа ВКЭ были ранее обнаружены у садовой камышовки в окрестностях г. Томска [14]. Арал

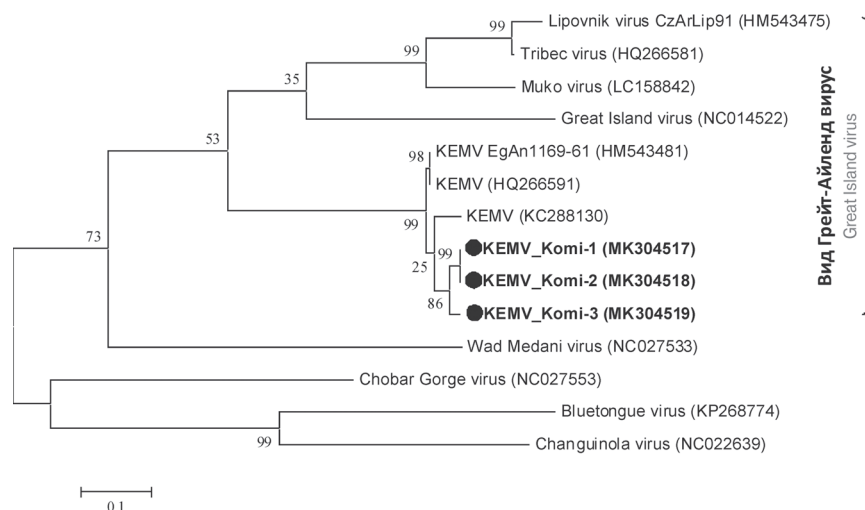


Рисунок 2. Филогендрограмма, отображающая взаимосвязь исследуемых изолятов КЕМВ (●) и других известных близкородственных орбивирусов

Figure 2. Phylogenetic tree which displaying a relationship between KEMV isolates (●) and other closely related orbiviruses

Примечание. Филогенетическое дерево построено на основе фрагмента (255 п.н.) сегмента 1 (VP1) с использованием метода максимального правдоподобия, модель эволюции GTR+I+G, индексы поддержки рассчитаны для 1000 повторов. Note. Based on segment 1 (VP1) gene fragment (255 bp) by using the maximum likelihood estimation, GTR+I+G evolution model, support indices calculated per 1000 repetitions.

распространения этой птицы, пути ее миграции и широкое распространение в Республике Коми вполне удовлетворительно могут объяснить занос ВКЭ в Республику Коми и быстрое распространение таежных клещей в этом регионе при помощи птиц.

Нами впервые выявлен генетический материал КЕМВ на территории Республики Коми в клещах *I. persulcatus*. Определение нуклеотидной последовательности фрагмента генома показало, что он имеет уровень гомологии приблизительно 94% в сравнении с другими известными последовательностями вируса Кемерово и, по всей вероятности, формирует две достаточно обособленные геногруппы КЕМВ в Республике Коми. Подобный уровень гомологии с известными вариантами вируса и наличие выраженных генетических групп КЕМВ позволяет высказать предположение о длительной циркуляции вируса Кемерово в природных очагах Республики Коми. К сожалению, информация о генетическом разнообразии и географическом распространении КЕМВ крайне ограничена. Это не позволяет точно оценить ареалы КЕМВ в северной Евразии и высказать гипотезу о возможных путях его распространения в России.

Вирус Кемерово относится к виду Great Island virus рода *Orbivirus* (орбивирусов) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=10892>). Данный вид включает в себя еще 5 вирусов, которые широко распространены в различных географических регионах мира. Факты обнаружения орбивирусов данного вида в Северной Америке, Северной Евразии и Австралии

подтверждают предположение о глобальном распространении этого вида вируса [13]. Его распространение связывают с перелетными (морскими) птицами и клещами, паразитирующими на них. Вполне вероятно, что именно перелетные птицы занесли орбивирусы в северо-восточные районы европейской части России. Значительный уровень обнаруженных генетических отличий у выделенных изолятов КЕМВ предполагает, что это произошло достаточно давно.

Таким образом, изучение генетического разнообразия ВКЭ и КЕМВ в таежных клещах из природных биотопов Республики Коми показало значительное генетическое разнообразие возбудителей клещевого энцефалита и лихорадки Кемерово. Данные филогеографического анализа позволяют предполагать циркуляцию не менее четырех геновариантов ВКЭ сибирского и дальневосточного генотипов, которые близки к вариантам ВКЭ, циркулирующим на Урале и в Сибирском регионе. Это позволяет высказать предположение о заносе ВКЭ в Республику Коми из этих регионов. Генетический материал вируса Кемерово был впервые обнаружен в таежных клещах в исследованном районе. Его секвенирование и анализ показали, что он весьма существенно отличается от известных ранее вариантов КЕМВ и представлен двумя геновариантами. По всей вероятности, это свидетельствует о том, что эволюция вируса Кемерово на северо-востоке европейской части РФ протекала независимо и достаточно длительное время. Типичным хозяином для данного вида орбивирусов являются перелетные птицы и клещи, паразитирующие

на них [13]. Выявление КЕМV в таежных клещах свидетельствует о циркуляции этого вируса в биотопах данного региона.

Выявленные варианты ВКЭ и КЕМV способны вызывать заболевания человека, причем с весьма необычной клиникой. Это различные формы хронического клещевого энцефалита с длительным инкубационным периодом, тяжелые формы КЭ с высоким уровнем летальности. По всей вероятности, новые варианты КЕМV также могут вызывать заболевания с разнообразной клинической картиной вирусной инфекции у человека. Однако отсутствие диагностических средств, адаптированных для выявления генетически разнородных вариантов ВКЭ и КЕМV, безусловно, затруднит проведение диагностики этих инфекций у населения Республики Коми.

Представляется, что уточнение ареалов распространения различных генотипов ВКЭ и вируса Кемерово, изучение вариативности их геномов является принципиальным моментом для улучшения диагностики, профилактики и лечения этих инфекционных клещевых заболеваний в Республике Коми и других северо-восточных регионах европейской части России.

Благодарности

Исследования поддержаны Российской федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (государственное задание ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора № 141-00069-18-01 от 17.03.2018).

Список литературы/References

1. Глушкова Л.И., Корабельников И.В., Егорова Ю.И., Терновой В.А., Протопопова Е.В., Микрюкова Т.П., Кононова Ю.В., Чаусов Е.В., Локтев В.Б. Возбудители инфекционных заболеваний в организме таежного клеща на территории Республики Коми // Дезинфекционное дело. 2012. № 1. С. 52–55. [Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Egorova Yu.I., Ternovoj V.A., Protopopova E.V., Mikryukova T.P., Kononova Yu.V., Chausov E.V., Loktev V.B. Pathogens of infectious diseases in ixodes persulcatus on the territory of the Komi Republic. *Dezinfektsionnoe delo = Desinfection Affairs*, 2012, no. 1, pp. 52–55. (In Russ.)]
2. Глушкова Л.И., Корабельников И.В., Терновой В.А., Протопопова Е.В., Микрюкова Т.П., Кононова Ю.В., Коновалова С.Н., Тупота Н.Л., Карташов М.Ю., Чаусов Е.В., Локтев В.Б., Егорова Ю.И. Выявление возбудителей заболеваний в Ixodes persulcatus на территории Республики Коми // Сибирский медицинский журнал. 2012. Т. 111, № 4. С. 88–91. [Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Ternovoj V.A., Protopopova E.V., Mikryukova T.P., Kononova Yu.V., Konovalova S.N., Tupota N.L., Kartashov M.Yu., Chausov E.V., Loktev V.B., Egorova Yu.I. Detection of causative agents in Ixodes persulcatus in the Komi Republic. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2012, vol. 111, no. 4, pp. 88–91. (In Russ.)]
3. Микрюкова Т.П., Чаусов Е.В., Коновалова С.Н., Кононова Ю.В., Протопопова Е.В., Карташов М.Ю., Терновой В.А., Глушкова Л.И., Корабельников И.В., Егорова Ю.И., Локтев В.Б. Генетическое разнообразие вируса клещевого энцефалита в клещах Ixodes persulcatus на северо-восточном регионе Европейской части России // Паразитология. 2014. Т. 48, № 2. С. 131–149. [Mikryukova T.P., Chausov E.V., Konovalova S.N., Kononova Yu.V., Protopopova E.V., Kartashov M.Yu., Ternovoj V.A., Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Egorova Yu.I., Loktev V.B. Genetic diversity of tick-borne encephalitis virus in Ixodes persulcatus ticks in the northeast region of the European part of Russia. *Parazitologiya = Parasitology*, 2014, vol. 48, no. 2, pp. 131–149. (In Russ.)]
4. Сафонова М.В., Дедков В.Г., Гмыль А.П., Крганова Г.Г., Сперанская А.С., Неверов А.Д., Федонин Г.Г., Валдохина А.В., Пимкина Е.В., Маркелов М.Л., Шипулин Г.А. Изучение генетического разнообразия вируса Кемерово // Национальные приоритеты России. 2016. № 4 (22). С. 96–100. [Safonova M.V., Dedkov V.G., Gmyl' A.P., Karganova G.G., Speranskaya A.S., Neverov A.D., Fedonin G.G., Valдохина A.V., Pimkina E.V., Markelov M.L., Shipulin G.A. Study of genetic diversity of Kemerovo virus. *Natsional'nye priorityety Rossii = Nacional'nye priorityety Rossii*, 2016, vol. 22, no. 4, pp. 96–100. (In Russ.)]
5. Dai X., Shang J., Lu S., Yang J., Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg. Microbes Infect.*, 2018, no. 7. doi: 10.1038/s41426-018-0081-6
6. Dedkov V.G., Markelov M.L., Gridneva K.A., Bekova M.V., Gmyl A.P., Kozlovskaya L.I., Karganova G.G., Romanova L.I., Pogodina V.V., Yakimenko V.V., Shipulin G.A. Prevalence of Kemerovo virus in ixodid ticks from the Russian Federation. *Ticks Tick-Borne Dis.*, 2014, vol. 5, no. 6, pp. 651–655. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.04.017
7. Dilcher M., Hasib L., Lechner M., Wieseke N., Middendorf M., Marz M., Koch A., Spiegel M., Dobler G., Hufert F.T., Weidmann M. Genetic characterization of Tribec virus and Kemerovo virus, two tick-transmitted human-pathogenic Orbiviruses. *Virology*, 2012, vol. 423, no. 1, pp. 68–76. doi: 10.1016/j.virol.2011.11.020
8. Ecker M., Allison S.L., Meixner T., Heinz F.X. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J. Gen. Virol.*, 1999, vol. 80 (Pt.1), pp. 179–185. doi: 10.1099/0022-1317-80-1-179
9. Grard G., Moureau G., Charrel R.N., Lemasson J.J., Gonzalez J.P., Gallian P., Gritsun T.S., Holmes E.C., Gould E.A., de Lamballerie X. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: new insights into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy. *Virology*, 2007, vol. 361, no. 1, pp. 80–92. doi: 10.1016/j.virol.2006.09.015
10. Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.*, 2003, vol. 57, no. 1–2, pp. 129–146. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00206-1
11. Hubálek Z., Rudolf I. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.*, 2012, vol. 111, no. 1, pp. 9–36. doi: 10.1007/s00436-012-2910-1
12. Kumar S., Stecher G., Tamura K. (2015) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 2015, vol. 33, no. 7, pp. 1870–1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
13. Major L., Linn M.L., Slade R.W., Schroder W.A., Hyatt A.D., Gardner J., Cowley J., Suhrbier A. Ticks associated with Macquarie island penguins carry arboviruses from four genera. *PLoS One*, 2009, vol. 4, no. 2. doi: 10.1371/journal.pone.0004375
14. Mikryukova T.P., Moskvitina N.S., Kononova Y.V., Korobitsyn I.G., Kartashov M.Y., Tyuten'kov O.Y., Protopopova E.V., Romanenko V.N., Chausov E.V., Gashkov S.I., Konovalova S.N., Moskvitin S.S., Tupota N.L., Sementsova A.O., Ternovoi V.A.,

- Loktev V.B. Surveillance of tick-borne encephalitis virus in wild birds and ixodes ticks in Tomsk city and its suburbs (Western Siberia). *Ticks and Tick-Borne Dis.*, 2014, vol. 5, no. 2, pp. 145–151. doi: 10.1016/j.tbd.2013.10.004
15. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 2012, vol. 28, no. 8, pp. 1166–1167. doi: 10.1093/bioinformatics/bts091
 16. Tkachev S.E., Tikunov A.Y., Babkin I.V., Livanova N.N., Livanov S.G., Panov V.V., Yakimenko V.V., Tantsev A.K., Taranenko D.E., Tikunova N.V. Occurrence and genetic variability of Kemerovo virus in Ixodes ticks from different regions of Western Siberia, Russia and Kazakhstan. *Infect. Genet. Evol.*, 2017, vol. 47, pp. 56–63. doi: 10.1016/j.meegid.2016.11.007
 17. Tokarevich N.K., Tronin A.A., Blinova O.V., Buzinov R.V., Boltenkov V.P., Yurasova E.D., Nurse J. The impact of climate change on the expansion of Ixodes persulcatus habitat and the incidence of tick-borne encephalitis in the north of European Russia. *Glob. Health Action*, 2011, no. 4: 8448. doi: 10.3402/gha.v4i0.8448
 18. Tokarevich N., Tronin A., Gnativ B., Revich B., Blinova O., Evengard B. Impact of air temperature variations on the ixodid ticks habitat and tick-borne encephalitis incidence in the Russian Arctic: the case of Komi Republic. *Int. J. Circumpolar. Health*, 2017, vol. 76, no. 1: 1298882. doi: 10.1080/22423982.2017.1298882

Авторы:

Карташов М.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия; научный сотрудник лаборатории биотехнологии и вирусологии, Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия;

Микрокова Т.П., к.б.н., старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Кривошеина Е.И., стажер-исследователь отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия; магистр кафедры биотехнологии Новосибирского государственного университета, г. Новосибирск, Россия;

Кузнецов А.И., стажер-исследователь отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия; магистр кафедры информационной биологии Новосибирского государственного университета, г. Новосибирск, Россия;

Глушкова Л.И., д.м.н., профессор, руководитель Управления Роспотребнадзора по Республике Коми, г. Сыктывкар, Россия;

Корабельников И.В., д.м.н., профессор, директор ФГУП «Дезинфекция» Роспотребнадзора, г. Сыктывкар, Россия;

Егорова Ю.И., энтомолог ФГУП «Дезинфекция» Роспотребнадзора, г. Сыктывкар, Россия;

Терновой В.А., к.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии особо опасных инфекций отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Локтев В.Б., д.б.н., профессор, зав. отделом молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п.г.т. Кольцово, Новосибирская область, Россия; профессор, кафедра биомедицинской физики, Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия; ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярных механизмов патологических процессов ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

Authors:

Kartashov M.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation; Researcher, Biotechnology and Virology Laboratory, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;

Mikryukova T.P., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Krivosheina E.I., Research Assistant, Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation; Master, Chair of Biotechnology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;

Kuznetsov A.I., Research Assistant, Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation; Master, Chair of Information Biology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;

Glushkova L.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Komi Republic Department of Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protections and Human Well-Being, Syktyvkar, Russian Federation;

Korabel'nikov I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the “Disinfection”, Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protections and Human Well-Being, Syktyvkar, Russian Federation;

Egorova Yu.I., Entomologist, “Disinfection”, Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protections and Human Well-Being, Syktyvkar, Russian Federation;

Ternovoi V.A., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology of Highly Dangerous Infections, Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Loktev V.B., PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Molecular Virology for Flaviviruses and Viral Hepatitis, State Research Center for Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation; Professor, Chair of Biomedical Physics, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation; Leading Researcher, Laboratory of the Molecular Mechanisms of Pathological Processes, Institute of Cytology and Genetics the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 12.02.2019
Отправлена на доработку 19.06.2019
Принята к печати 16.09.2019

Received 12.02.2019
Revision received 19.06.2019
Accepted 16.09.2019