

Верхозина М.М.², Козлова И.В.¹, Дорощенко Е.К.¹, Лисак О.В.¹, Демина Т.В.³, Ткачев С.Е.⁴,
Джиоев Ю.П.⁵, Сунцова О.В.¹, Савинова Ю.С.¹, Парамонов А.И.¹, Злобин В.И.⁵

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ФЕНОТИПИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ НА ТЕРРИТОРИИ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
(664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области»
(664047, г. Иркутск, ул. Триллссера, 51, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского»
(664038, Иркутская область, Иркутский район, п. Молодежный, Россия)

⁴ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
(630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, Россия)

⁵ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России
(664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

В связи с тем, что основу формирования популяции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) составляют иксодовые клещи и их прокормители – позвоночные животные, представляло интерес получение генетической характеристики штаммов, выделенных из различных источников на территории Восточной Сибири.

В ходе проведенного исследования установлено, что циркуляция ВКЭ генотипов 1, 2, 3, 5 и «политиповых» штаммов на территории Восточной Сибири поддерживается как основными переносчиками (клещами *I. persulcatus*), так и их прокормителями (мелкими и крупными млекопитающими, птицами). Распределение генотипов в группах штаммов от иксодовых клещей и позвоночных животных различалось. Штаммы ВКЭ генотипов 1 и 2 статистически значимо чаще выделялись от грызунов, штаммы генотипа 3 – от иксодовых клещей ($p < 0,05$). В группе штаммов, изолированных от иксодовых клещей, преобладали изоляты генотипа 3 (85,5%), из которых 29,6% составили штаммы субгенотипа «Васильченко», 25,6% – штаммы субгенотипа «Заусаев». Генотипы 1 и 2 были представлены единичными изолятами (3,3% и 1,3% соответственно). Среди штаммов, изолированных от теплокровных хозяев, доля генотипа 1 составила 35,3%, генотипа 2 – 11,8%, генотипа 3 – 35,3%. Более половины штаммов генотипа 3 (58,3%) были отнесены к субгенотипу «Васильченко», штаммов субгенотипа «Заусаев» не выявлено. Полученные данные позволяют предположить, что иксодовые клещи являются амплификаторами ВКЭ генотипа 3, а теплокровные животные – амплификаторами ВКЭ генотипа 1.

Выявлены определённые различия фенотипических признаков штаммов, изолированных от клещей и теплокровных животных. Установлено, что штаммы, изолированные от клещей, более однородны по своей антигенной характеристике, менее гетерогенны по S-признаку, чем штаммы, выделенные от теплокровных источников. Штаммы, выделенные от теплокровных животных, проявляют несколько большую устойчивость к прогреванию при одновременном снижении репродукции вируса при температуре 42 °С, обладают большей вирулентностью, по сравнению со штаммами, выделенными от клещей.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, генотип, генетические свойства, фенотипические свойства, генетические маркеры, источник изоляции, Восточная Сибирь

CHARACTERISTICS OF GENETIC AND PHENOTYPIC PROPERTIES OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS ISOLATED FROM VARIOUS SOURCE ON THE TERRITORY OF EASTERN SIBERIA

Verkhovina M.M.², Kozlova I.V.¹, Doroshchenko E.K.¹, Lisak O.V.¹, Demina T.B.³,
Tkachev S.E.⁴, Dzhioev Yu.P.⁵, Suntsova O.V.¹, Savinova Yu.S.¹, Paramonov A.I.¹,
Zlobin V.I.⁵

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems
(ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Centre of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region
(ul. Trilissera 51, Irkutsk 664047, Russian Federation)

³ Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky
(Molodezhny, Irkutsk District 664038, Irkutsk Region, Russian Federation)

⁴ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences (pr. Akademika Lavrentieva 8, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

⁵ Irkutsk State Medical University
(ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Since ixodid ticks and their feeders (vertebrates) form the basis of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) population, it was interesting to obtain a genetic characteristic of strains isolated from various sources in the territory of Eastern Siberia.

In our study, it was found that the circulation of TBEV of genotypes 1, 2, 3, 5 and “polytypic” strains in the territory of Eastern Siberia is maintained both by the main vectors (*I. persulcatus* ticks) and by their feeders (small and large

mammals, birds). The distribution of genotypes in strains groups from ixodid ticks and vertebrates varied. TBEV strains of genotypes 1 and 2 were significantly more often isolated from rodents, and genotype 3 from ixodid ticks ($p < 0.05$). Isolates of genotype 3 (85.5 %) prevailed in the group of strains isolated from ixodid ticks, of which 29.6 % belonged to "Vasilchenko", and 25.6 % to "Zausaev" subgenotypes. Genotypes 1 and 2 were represented by single isolates (3.3 % and 1.3 %, respectively). Among strains isolated from warm-blooded hosts, the proportion of genotype 1 was 35.3 %, genotype 2 – 11.8 %, genotype 3 – 35.3 %. More than half of genotype 3 strains (58.3 %) were related to "Vasilchenko" subgenotype, and the strains of "Zausaev" subgenotype were not detected. The obtained data suggest that ixodid ticks and warm-blooded animals are amplifiers of TBEV of genotypes 3 and 1, respectively.

The certain differences in the phenotypic characteristics of strains isolated from ticks and warm-blooded animals have been revealed. It has been found that strains isolated from ticks are more homogeneous in their antigenic characteristics, less heterogeneous in S-feature than strains isolated from warm-blooded sources. The strains isolated from warm-blooded animals demonstrate somewhat greater resistance to warming but reducing the reproduction of the virus at 42 °C, and have greater virulence compared to strains isolated from ticks.

Key words: tick-borne encephalitis virus, genotype, genetic properties, phenotypic properties, genetic markers, source of isolation, Eastern Siberia

ВВЕДЕНИЕ

По представлению Я.Я. Цилинского [11], структура природных вирусных популяций определяется популяционной структурой хозяев, а взаимоотношения вируса с популяцией хозяев определены как паразитизм на популяционном уровне. Как считают В.Д. Беляков и соавт. [1], неоднородность популяции переносчиков вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и их позвоночных хозяев определяет неодинаковые условия жизнедеятельности возбудителей в организме отдельных индивидуумов, создавая разнообразие среды обитания этих возбудителей. Генотипическая и фенотипическая неоднородность популяции возбудителей – это приспособительный признак, обеспечивающий существование паразитов в разнообразных условиях обитания.

Так как основу формирования популяции ВКЭ составляют иксодовые клещи и их прокормители – позвоночные животные, то чрезвычайно важным, по нашему мнению, является получение характеристики генетических и фенотипических свойств штаммов ВКЭ, выделенных из различных источников на территории Восточной Сибири. Получение такой комплексной характеристики штаммов и являлось целью данного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусы и изоляты РНК. В работе использовано 196 штаммов ВКЭ из коллекции ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск), выделенных на территории Восточной Сибири.

Методы. Генотипирование ВКЭ выполнялось с помощью трёх молекулярно-генетических технологий: молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот (МГНК), полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени с генотип-специфическими флуоресцентными зондами, секвенирование полного генома и его фрагментов.

Компьютерный анализ полученных последовательностей осуществляли с помощью программы MEGA 5.0 [7]. Для сравнения использовали последовательности фрагментов генома штаммов ВКЭ, относящихся к различным генетическим типам, из базы данных GenBank. Поиск гомологии полученных нуклеотидных последовательностей с уже известными последовательностями фрагментов геномов ВКЭ

проводили с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

Для изучения фенотипических свойств штаммов ВКЭ использовался комплекс методов.

Оценку S-признака проводили с применением микрометода бляшек в культуре клеток СПЭВ в 24-луночных планшетах. Опыты повторяли 3–4 раза. Заражение клеток СПЭВ штаммами, прошедшими не более 4 пассажей через мозг белых мышей и 3-кратное клонирование в культуре клеток СПЭВ, вызывало чёткую деструкцию клеток. Деструкция клеток и образование бляшек появлялись на 3–4-е сутки.

Терморезистентность (Т50) штаммов ВКЭ изучали по методу, описанному Э.А. Овчинниковой с соавт. (1967) с использованием суточной культуры клеток СПЭВ, выращенной в 96-луночных планшетах в атмосфере CO₂. Уровень терморезистентности оценивали по индексу инактивации – разность lg титров прогретого (50 °C) в течение 15 мин и непрогретого (4 °C) вируса.

Способность к репродукции при супраоптимальной температуре (rct₄₂) определяли по разнице титров вируса, культивируемого в культуре клеток СПЭВ при 37 °C и 42 °C. Генетический признак (+) учитывали, если разница титров вируса составляла ≤ 2,0 lg; (±) – при разнице от 2,1 до 3,0 lg; (–) – при разнице ≥ 3,1 lg.

Для оценки нейровирулентности и инвазивных свойств штаммов ВКЭ определяли индекс инвазивности (II) – разницу титров вируса при церебральном (mN_{ic}) и подкожном (mN_{sc}) заражении мышей, выраженную в lg LD50/мл. Заражали беспородных белых мышей массой 5–7 г, вводы в мозг по 0,03 мл, под кожу по 0,25 мл инокулята. Животных, заражённых интрацеребрально, наблюдали в течение 14 дней; животных, заражённых экстраневрально – в течение 21 дня. Титры вируса определяли по методу Рида и Менча. Генетический признак (+) учитывали, если разница титров вируса составляла ≤ 2,0 lg; (±) – при разнице от 2,1 до 2,9 lg; (–) – при разнице ≥ 3,0 lg. Значение II в пределах 1–2,5 означало высокие инвазивные свойства штамма, значение II ≥ 3 – сниженную инвазивную активность.

Реакцию диффузной преципитации в агаре (РДПА) проводили на основе адсорбции иммунных сывороток стандартными дозами концентрированных антигенов по методу С.Г. Рубина (1971).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных нами многолетних данных, основанных на результатах генотипирования штаммов ВКЭ, выделенных из природы или от больных людей на территории Восточной Сибири, показал, что генетическое разнообразие ВКЭ не выходит за пределы пяти генотипов (субтипов): генотип 1 (дальневосточный), генотип 2 (западный), генотип 3 (урало-сибирский), генотип 4 (штамм 178-79) и генотип 5 («группа 886»). Выявленные нами так называемые «политиповые» штаммы обладали генетическими маркерами сразу нескольких из вышеперечисленных генотипов.

Основная часть исследованных штаммов (n = 148) была изолирована от клещей *Ixodes persulcatus*, 3 штамма – от *Dermacentor nuttalli*, 2 штамма – от *D. silvarum*. Проведённый нами анализ показал, что среди изолятов от клещей *I. persulcatus* преобладали штаммы ВКЭ генотипа 3 (85,0 %), из которых 29,6 % составили штаммы субгенотипа «Васильченко», 25,6 % – штаммы субгенотипа «Заусаев», 44,8 % штаммов не были типированы до субгенотипа (табл. 1).

Остальную часть составили штаммы ВКЭ генотипа 1 (3,4 %), генотипа 2 (1,4 %), «политиповые» штаммы (2,0 %), 11 штаммов вошли в группу генотипа 5 (7,5 %) и 1 штамм 178-79. Штаммы, изолированные из клещей р. *Dermacentor*, были отнесены к генотипу 3. Четыре из них вошли в состав субгенотипа «Васильченко». Примечательно, что при исследовании участка гена белка E и гена NS1 длиной 297 п.н. у штаммов 48-76 и 29-94, изолированных из клещей *D. nuttalli* и *D. silvarum* на территории двух районов Республики Бурятия (Тункинского и Баунтовского), исследуемые участки генома были гомологичны между собой, но отличались от последовательностей всех остальных штаммов по аминокислоте в позиции 10 (ген NS1) (Glu→Asp).

Штамм 98-86, изолированный из клеща *D. nuttalli*, собранного в Хакасии, в позиции 490 (ген E) имеет замену (Met→Leu), что также отличает его от остальных штаммов генотипа 3. Возможно, эти отличия связаны с источником изоляции штаммов, однако, чтобы убедиться в этом, необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, показано, что среди восточносибирских штаммов, выделенных от клещей *I. persulcatus*, представлено все разнообразие генотипов ВКЭ и субгенотипов сибирской группы. От клещей рода *Dermacentor* изолированы штаммы генотипа 3, хотя

не исключено, что при исследовании большего количества штаммов от клещей этого рода в них могут быть обнаружены представители других генотипов.

При генотипировании 34 штаммов ВКЭ, выделенных от различного вида животных, установлено, что в состав данной выборки входят штаммы тех же генотипов, что и в выборке от клещей (за исключением штамма 178-79). К генотипам 1 и 3 отнесено равное количество штаммов – по 35,3 %, к генотипу 2 – 11,8 %. Обнаружены по три штамма ВКЭ генотипа 5 и «политиповых» штаммов (8,8 %). Среди штаммов ВКЭ генотипа 3 выявлены изоляты субгенотипа «Васильченко» (58,3 %), штаммов субгенотипа «Заусаев» не обнаружено.

Более полная информация о результатах генотипирования штаммов ВКЭ, изолированных от теплокровных животных в Восточной Сибири, приведена в таблице 2.

От мыши восточноазиатской, хомячка даурского, полёвки обыкновенной, серой полёвки, домовой мыши и утки широконоски изолирован штамм ВКЭ только генотипа 3. Штамм, выделенный от бурозубки, был отнесён к генотипу 1. От суслика длиннохвостого были изолированы штаммы ВКЭ генотипа 2. Один из штаммов, выделенный из мозга полёвки узкочерепной, был типирован как ВКЭ генотипа 1, другой – как ВКЭ генотипа 2. Среди семи штаммов, выделенных от красно-серой полёвки, преобладали штаммы ВКЭ генотипа 1 (4 изолята), а также обнаружен штамм ВКЭ генотипа 3 и два изолята генотипа 5. По результатам генотипирования три штамма, изолированные от полёвки-экономки, были отнесены к генотипу 1 и два – к генотипу 3. Из мозга полёвки красной выделены штаммы генотипов 1, 2, 3, 5, и, кроме того, обнаружен «политиповой» штамм. «Политиповые» штаммы изолированы также из мозга лесной мыши и рябчика, добытых на территории Республики Бурятия. Как считают некоторые исследователи [3], именно рябчику, ведущему оседлый образ жизни, принадлежит наибольшая роль в широких контактах через *I. persulcatus* с другими видами птиц и млекопитающими. На нём паразитируют клещи на всех активных стадиях развития.

Из молока коровы были выделены штаммы ВКЭ генотипов 1 и 3.

Таким образом, нами установлено, что циркуляция ВКЭ генотипов 1, 2, 3, 5 и «политиповых» штаммов на территории Восточной Сибири поддерживается

Таблица 1
Генотипы штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных от иксодовых клещей (абс./%)

Genotypes of tick-borne encephalitis virus strains isolated from ixodid ticks (abs./%)

Table 1

Источник изоляции	Всего штаммов	Генотип					
		1	2	3	4	5	П
<i>I. persulcatus</i>	147	5/3,4	2/1,4	125/85,0	1/0,7	11/7,5	3/2,0
<i>D. nuttalli</i>	3	–	–	3	–	–	–
<i>D. silvarum</i>	2	–	–	2	–	–	–
Всего	152	5/3,3	2/1,3	130/85,5	1/0,7	11/7,2	3/2,0

Примечание. П – «политиповые штаммы».

Таблица 2
Распределение генотипов ВКЭ среди штаммов, изолированных от теплокровных животных в Восточной Сибири
Table 2
Distribution of TBEV genotypes among strains isolated from warm-blooded animals in Eastern Siberia

Вид	Генотип					
	1	2	3	5	П	Всего
Азиатская лесная мышь (<i>Apodemus speciosus</i>)	–	–	2	–	1	3
Хомячок даурский (<i>Cricetulus barabensis</i>)	–	–	1	–	–	1
Красно-серая полевка (<i>Myodes (Clethrionomys) rutilus</i>)	4	–	1	2		7
Полевка узкочерепная (<i>Microtus gregalis</i>)	1	1	–	–	–	2
Полевка-экономка (<i>Microtus oeconomus</i>)	3	–	2	–	–	5
Полевка обыкновенная (<i>Microtus arvalis</i>)	–	–	1	–	–	1
Суслик длиннохвостый (<i>Spermophilus undulatus</i>)	–	2	–	–	–	2
Полевка красная (<i>Myodes rutilus</i>)	2	1	1	1	1	6
Серая полевка (<i>Microtus arvalis</i>)	–	–	1	–	–	1
Домовая мышь (<i>Mus musculus</i>)	–	–	1	–	–	1
Бурозубка (<i>Sorex sp.</i>)	1	–	–	–	–	1
Рябчик (<i>Tetrastes bonasia</i>)	–	–	–	–	1	1
Утка широконоска (<i>Anas clypeata</i>)	–	–	1	–	–	1
Молоко коровы	1	–	1	–	–	2
Итого: абс./%	12/35,3	4/11,8	12/35,3	3/8,8	3/8,8	34

Примечание. П – «политиповые штаммы».

Таблица 3
Результаты генотипирования штаммов ВКЭ, выделенных из различных биологических объектов на территории Восточной Сибири
Table 3
The results of genotyping of TBEV strains, isolated from various biological objects in the territory of Eastern Siberia

Вид	Генотип						
	1	2	3	4	5	П	Всего
Клещи (<i>I. persulcatus</i> , <i>D. nuttalli</i> , <i>D. silvarum</i>)	5/3,3	2/1,3	130/85,5	1/0,7	11/7,2	3/2,0	152
Теплокровные животные	12/35,3	4/11,8	12/35,3	–	3/8,8	3/8,8	34

Примечание. П – «политиповые штаммы».

как основными переносчиками (клещами *I. persulcatus*), так и их прокормителями (мелкими и крупными млекопитающими, птицами). Выделение штаммов одних и тех же генотипов (за исключением генотипа 4) от клещей и их прокормителей дополняет наши представления о цепях циркуляции возбудителя в природных очагах Восточной Сибири и свидетельствует об их существенной роли в формировании гетерогенной популяции ВКЭ в Восточно-Сибирском регионе.

Распределение генотипов в группах штаммов от иксодовых клещей и позвоночных животных различалось (табл. 3).

Так, в первой группе преобладали изоляты генотипа 3 (85,5%), из которых 29,6% составили штаммы субгенотипа «Васильченко», 25,6% – субгенотипа «Заусаев». Генотипы 1 и 2 были представлены единичными изолятами (3,3% и 1,3% соответственно). Среди штаммов, изолированных от теплокровных хозяев, доля генотипа 1 увеличивается до 35,3%, доля генотипа 2 – до 11,8%, а доля генотипа 3 значительно уменьшается (до 35,3%). Более половины штаммов

ВКЭ генотипа 3 (58,3%) отнесены к субгенотипу «Васильченко», штаммов субгенотипа «Заусаев» не выявлено. Процентное соотношение изолятов ВКЭ генотипа 5 в этих группах почти не отличалось.

О доминировании ВКЭ генотипа 3 среди «клещевых» популяций вируса в природных очагах сообщается во многих публикациях [6, 7, 10, 12]. Авторы подчёркивают, что идентифицировали вирус с помощью методов молекулярной биологии, минуя процесс его культивирования путём пассирования на мышах или культуре клеток, тем самым исключая влияние факторов «искусственного отбора» на результат типирования, который, вероятно, имеет место при культивировании возбудителя в лабораторных условиях.

Г.Г. Карганова на экспериментальной модели показала, что переадаптация к млекопитающим адаптированного к клещам вируса происходит за счёт изменения соотношения содержащихся в популяции вариантов ВКЭ, а также за счёт появления новых мутантов с более высокой приспособленностью к репродукции в данной системе [13]. О селективном преимуществе одного из

двух подтипов – дальневосточного или сибирского (генотипы 1 и 3), – проявляющемся при различных способах заражения хомяков разного возраста свидетельствуют результаты эксперимента, проведённого С.Г. Герасимовым [2]. Автором установлено, что между вирусными популяциями двух подтипов ВКЭ (как и между разными видами вирусов) могут иметь место независимая репродукция и конкурентное исключение.

Несмотря на то, что выборка, взятая нами в исследование, была представлена неодинаковым количеством штаммов, выделенных от иксодовых клещей и теплокровных хозяев в различных очагах, полученные данные подтверждают предположение о том, что ВКЭ может существовать в виде гетерогенной популяции, содержащей варианты, соотношение которых в популяции меняется при чередовании хозяев в процессе циркуляции [4, 5, 13].

При сравнительном анализе генетических маркеров штаммов ВКЭ, изолированных от теплокровных и клещей, также выявлены определённые различия. С помощью РДПА установлено, что от теплокровных чаще выделяются промежуточные варианты антигенных подтипов ВКЭ, тогда как штаммы, изолированные от клещей, более однородны по своей антигенной характеристике. Штаммы, выделенные от теплокровных, были более гетерогенны по S-признаку (размер бляшек), проявляли несколько большую устойчивость к прогреванию при одновременном снижении репродукции вируса при температуре 42 °С (табл. 4). Эти результаты согласуются с данными, полученными Г.Н. Леоновой, исследовавшей вирусную популяцию Южно-Сихотэ-Алиньского региона по генетическим маркерам rct₂₈, rct₃₇, rct₄₂ и T₅₆ [8]. Выраженная способность к репродукции ВКЭ в широком температурном диапазоне, наряду с проявлением термоллабильности, характерная для «клещевой» вирусной популяции, является, по мнению Г.Н. Леоновой, одним из важных механизмов адаптации, обусловленных естественной средой обитания вируса, основным хозяином которого является пойкилотермный организм членистоногих.

Таблица 4
Сравнительная характеристика штаммов, выделенных от иксодовых клещей и от теплокровных по генетическим маркерам T₅₀, rct₄₂

Table 4
Comparative characteristics of strains isolated from ixodid ticks and warm-blooded animals by T₅₀, rct₄₂ genetic markers

Генетический признак	Процентное соотношение штаммов, выделенных из разных источников (абс., (% ± m))		
	Клещи (n = 53)	Теплокровные (n = 32)	
T50	+	30 (56,6 ± 6,8)	20 (62,5 ± 8,6)
	±	12 (22,6 ± 5,7)	7 (21,9 ± 7,3)
	–	11 (20,8 ± 4,3)	5 (15,6 ± 6,4)
rct42	+	46 (86,8 ± 4,6)	26 (81,3 ± 6,9)
	±	6 (11,3 ± 4,3)	2 (6,3 ± 4,3)
	–	1 (1,9 ± 1,9)	4 (12,5 ± 5,9)

Штаммы, изолированные от теплокровных, обладали более высокими нейровирулентными и нейро-

инвазивными свойствами, несколько более высокой способностью вызывать летальность и низкими показателями средней продолжительности жизни (СПЖ) для лабораторных мышей, по сравнению со штаммами, выделенными от клещей (табл. 5).

Таблица 5
Сравнительная характеристика штаммов, выделенных от теплокровных и от иксодовых клещей, по индексу инвазивности, СПЖ и летальности

Table 5
Comparative characteristics of strains isolated from warm-blooded animals and ixodid ticks, by the invasiveness index, ALE and lethality

Генетический признак	Соотношение штаммов, выделенных из разных источников		
	Теплокровные (n = 14)	Клещи (n = 23)	
II (% ± m)	+	12 (85,7 ± 10,1)	14 (60,9 ± 10,2)
	±	–	5 (21,7 ± 8,6)
	–	2 (14,3 ± 9,3)	4 (17,4 ± 7,9)
СПЖ (дни)	Теплокровные (n = 47)	Клещи (n = 136)	
	5,4	6,0	
Летальность (% ± m)	96,5 ± 0,7	93,5 ± 0,7	

Эти результаты также согласуются с данными Г.Н. Леоновой [9], которая показала, что штаммы, выделенные в очаге КЭ от больных и умерших людей и теплокровных, более вирулентны для белых мышей, чем штаммы, полученные от иксодовых клещей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведённого исследования установлено, что циркуляция ВКЭ генотипов 1, 2, 3, 5 и «политиповых» штаммов на территории Восточной Сибири поддерживается как основными переносчиками (клещами *I. persulcatus*), так и их прокормителями. Штаммы ВКЭ генотипов 1 и 2 статистически значимо чаще выделялись от грызунов, штаммы генотипа 3 – от иксодовых клещей (*p* < 0,05). Полученные данные позволяют высказать предположение о том, что иксодовые клещи являются амплификаторами ВКЭ генотипа 3, а теплокровные животные – амплификаторам ВКЭ генотипа 1. Однако для однозначного ответа на вопрос о роли иксодовых клещей и теплокровных животных в селекции штаммов ВКЭ определённых генотипов требуется проведение дополнительных исследований.

Выявлены определённые различия фенотипических признаков штаммов, изолированных от клещей и теплокровных животных. Установлено, что от теплокровных чаще выделяются промежуточные варианты антигенных подтипов ВКЭ, тогда как штаммы, изолированные от клещей, более однородны по своей антигенной характеристике. Штаммы, выделенные от теплокровных, были более гетерогенны по S-признаку (размер бляшек), проявляли несколько большую устойчивость к прогреванию при одновременном снижении репродукции вируса при температуре 42 °С, обладали более высокими нейровирулентными и нейроинвазивными свойствами, несколько более высокой способностью вы-

зывать летальность и низкие показатели СПЖ для лабораторных мышей, по сравнению со штаммами, выделенными от клещей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-04-013360_а.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем. – М.: Медицина, 1987. – 242 с.

Belyakov VD, Golubev DB, Kaminsky GD, Tets VV. (1987). Self-regulation of parasitic systems [Samoregulyatsiya parazitarnykh sistem]. Moskva, 242 p.

2. Герасимов С.Г., Погодина В.В., Колясникова Н.М., Карань Л.С., Маленко Г.В., Левина Л.С. Взаимодействие Сибирского и Дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита при микстинфекции в организме млекопитающих. Факторы, влияющие на тип взаимодействия // Вопросы вирусологии. – 2011. – Т. 56, № 2. – С. 19–22.

Gerasimov SG, Pogodina VV, Kolyasnikova NM, Karan LS, Malenko GV, Levina LS. (2011). Interaction of the Siberian and Far Eastern subtypes of the tick-borne encephalitis virus during microinfection in mammals. Factors influencing the type of interaction [Vzaimodeystvie Sibirskogo i Dal'nevostochnogo podtipov virusa kleshchevogo entsefalita pri mikstinfektsii v organizme mlekopitayushchikh. Faktory, vliyayushchie na tip vzaimodeystviya]. *Voprosy virusologii*, 56 (2), 19-22.

3. Емельянова Н.Д., Захлебная О.Д. О роли пернатых в циркуляции вируса клещевого энцефалита в природных очагах Восточной Сибири и Дальнего Востока // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики клещевого энцефалита: Тез. докл. Всесоюзного симпозиума (Иркутск, 18–21 сент. 1990 г.). – Иркутск, 1990. – С. 39–40.

Emelyanova ND, Zakhlebnyaya OD. (1990). On the role of birds in tick-borne encephalitis virus circulation in natural foci of Eastern Siberia and the Far East [O roli pernatykh v tsirkulyatsii virusa kleshchevogo entsefalita v prirodnykh ochagakh Vostochnoy Sibiri i Dal'nego Vostoka]. *Sovremennye problemy epidemiologii, diagnostiki i profilaktiki kleshchevogo entsefalita: Tezisy dokladov Vsesoyuznogo simpoziuma*. Irkutsk, 39-40.

4. Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Верхозина М.М., Козлова И.В., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Злобин В.И. Генотипирование вируса клещевого энцефалита в природных и антропоургических очагах Евразии по результатам мультилокусной гибридизации // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. – Новосибирск, 2011. – С. 139–153.

Demina TV, Dzhioev YuP, Verkhozina MM, Kozlova IV, Tkachev SE, Doroshchenko EK, Lisak OV, Zlobin VI. (2011). Genotyping of tick-borne encephalitis virus in natural and antropurgic foci of Eurasia according to the results of multilocus hybridization [Genotipirovanie virusa kleshchevogo entsefalita v prirodnykh i antropurgicheskikh ochagakh Evrazii po rezul'tatam mul'tilokusnoy gibridizatsii]. *Infektsii, peredavaemye kleshchami v Sibirskom regione*. Novosibirsk, 139-153.

5. Дживанян Т.И., Королев М.Б., Караганова Г.Г., Лисак В.М., Каштанова Г.Н., Чупринская М.В. Изменение зависимых от хозяина характеристик вируса клещевого энцефалита при его адаптации к клещам и переадаптации к белым мышам // Вопросы вирусологии. – 1988. – № 5. – С. 589–595.

Dzhivanyan TI, Korolev MB, Karaganova GG, Lisak VM, Kashtanova GN, Chuprinskaya MV. (1988). Change in the host-dependent characteristics of tick-borne encephalitis virus when it is adapted to mites and re-adapted to white mice [Izmenenie zavisimykh ot khozyaina kharakteristik virusa kleshchevogo entsefalita pri ego adaptatsii k kleshcham i pereadaptatsii k belym mysham]. *Voprosy virusologii*, (5), 589-595.

6. Карань Л.С., Маленко Г.В., Бочкова Н.Г., Левина Л.С., Ливанова Г.П., Колясникова Н.М., Гамова Е.Г., Трухина А.Г., Злобин В.И., Верхозина М.М., Козлова И.В., Джиоев Ю.П., Демина Т.В., Погодина В.В. Применение молекулярно-генетических методов для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита // Бюл. СО РАМН. – 2007. – № 4. – С. 34–40.

Karan LS, Malenko GV, Bochkova NG, Levina LS, Livanova GP, Kolyasnikova NM, Gamova EG, Trukhina AG, Zlobin VI, Verkhozina MM, Kozlova IV, Dzhioev YuP, Demina TV, Pogodina VV. (2007). The use of molecular genetic methods for studying the structure of strains of tick-borne encephalitis virus [Primenenie molekulyarno-geneticheskikh metodov dlya izucheniya struktury shtammov virusa kleshchevogo entsefalita]. *Byul. SO RAMN*, (4), 34-40.

7. Ковалев С.Ю., Умпелова Т.В., Снитковская Т.Э., Килычина А.С., Романенко В.В., Кокорев В.С., Глинских Н.П. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вируса клещевого энцефалита на территории Свердловской области на основе генотипспецифической ОТ-ПЦР // Вопросы вирусологии. – 2008. – № 2. – С. 27–31.

Kovalev SYu, Umpelova TV, Snitkovskaya TE, Kilyachina AS, Romanenko VV, Kokorev VS, Glinskikh NP. (2008). Molecular-epidemiological characteristics of tick-borne encephalitis virus in the Sverdlovsk Region on the basis of genotype-specific RT-PCR [Molekulyarno-epidemiologicheskaya kharakteristika virusa kleshchevogo entsefalita na territorii Sverdlovskoy oblasti na osnove genotipspezificheskoy OT-PTsR]. *Voprosy virusologii*, (2), 27-31.

8. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае. – Владивосток: Дальнаука, 1997. – 187 с.

Leonova GN. (1997). Tick-borne encephalitis in the Primorye Territory [*Kleshchevoy entsefalit v Primorskom krae*]. Vladivostok, 187 p.

9. Леонова Г.Н., Мураткина С.М., Кругляк С.П. Изучение вирулентности штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных на юге Советского Дальнего Востока // Вопросы вирусологии. – 1990. – № 5. – С. 399–401.

Leonova GN, Muratkina SM, Kruglyak SP (1990). Study of virulence of strains of tick-borne encephalitis virus isolated in the south of the Soviet Far East [Izuchenie virulentnosti shtammov virusa kleshchevogo entsefalita, izolirovannykh na yuge Sovetskogo Dal'nego Vostoka]. *Voprosy virusologii*, (5), 399-401.

10. Ткачев С.Е., Ливанова Н.Н., Ливанов С.Г. Исследование генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита сибирского генетического типа,

выявленного в клещах *I. persulcatus* на Северном Урале в 2006 году // Бюл. СО РАМН. – 2007. – № 4 (126). – С. 49–52.

Tkachev SE, Livanova NN, Livanov SG (2007). Investigation of the genetic diversity of the virus of tick-borne encephalitis of the Siberian genetic type, revealed in ticks *I. persulcatus* in the Northern Urals in 2006 [Issledovanie geneticheskogo raznoobraziya virusa kleshchevogo entsefalita sibirskogo geneticheskogo tipa, vyyavlenno v kleshchakh *I. persulcatus* na Severnom Urale v 2006 godu]. *Byul. SO RAMN*, (4), 49-52.

11. Цилинский Я.Я. Популяционная структура и эволюция вирусов. – М.: Медицина, 1988. – 239 с.

Tsilinskiy YY. (1988). Population structure and evolution of viruses [Populyatsionnaya struktura i evolyutsiya virusov]. Moskva, 239 p.

12. Jaaskelainen AE, Tikkakoski T, Uzcatgeui NY, Alekseev AN, Vaheri A, Vapalahti O. (2006). Siberian subtype tick-borne encephalitis virus, Finland. *Emerg Infect Dis*, 12 (10), 1568-1571.

13. Romanova Llu, Gmyl AP, Dzhibanian TI, Bakhmurov DV, Lukashev AN, Gmyl LV, Rumyantsev AA, Burenkova LA, Lashkevich VA, Karganova GG. (2007). Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation. *Virology*, 362 (1), 75-84.

Сведения об авторах

Information about the authors

Верхозина Марина Михайловна – доктор биологических наук, биолог вирусологической лаборатории, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» (664047, г. Иркутск, ул. Триллссера, 51; тел. (3952) 23-41-97; e-mail: mverkhoz@rambler.ru)

Verkhovina Marina Mikhaylovna – Doctor of Biological Sciences, Biologist at the Virology Laboratory, Centre of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region (664047, Irkutsk, ul. Trilissera, 51; tel. (3952) 23-41-97; e-mail: mverkhoz@rambler.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 33-39-51; e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Kozlova Irina Valeryevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 33-39-51; e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Дорощенко Елена Константиновна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru)

Doroshchenko Elena Konstantinovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru)

Лисак Оксана Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: lisak.liza@rambler.ru)

Lisak Oksana Vasilyevna – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: lisak.liza@rambler.ru)

Демина Татьяна Васильевна – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции и ветсанэкспертизы, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского» (664038, Иркутская область, Иркутский район, п. Молодежный; тел. (3952) 20-75-26; e-mail: demina2006@mail.ru)

Demina Tatyana Vasilievna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor at the Department of the Technology of Production and Processing of Agricultural Products and Veterinary-Sanitary Evaluation, Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky (664038, Irkutsk Region, Irkutsk District, Molodezhny; tel. (3952) 20-75-26; e-mail: demina2006@mail.ru)

Ткачев Сергей Евгеньевич – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8; тел. (383) 363-51-37; e-mail: sergey.e.tkachev@mail.ru)

Tkachev Sergey Evgenievich – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (630090, Novosibirsk, pr. Akademika Lavrentieva, 8; tel. (383) 363-51-37; e-mail: sergey.e.tkachev@mail.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел. (3952) 24-38-25; e-mail: alanir07@mail.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer, Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1; tel. (3952) 24-38-25; e-mail: alanir07@mail.ru)

Сунцова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: olga_syntsova@list.ru)

Suntsova Olga Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: olga_syntsova@list.ru)

Савинова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: vippersona2389@rambler.ru)

Savinova Yulia Sergeevna – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: vippersona2389@rambler.ru)

Парамонов Алексей Игоревич – лаборант-исследователь лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Paramonov Aleksey Igorevich – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Злобин Владимир Игоревич – академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Zlobin Vladimir Igorevich – Academician of RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology with the Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)