

*Д.К. Львов, С.В. Альховский, М.Ю. Шелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, А.К. Гительман,
Е.И. Самохвалов, А.Г. Ботиков*

Генетическая характеристика штаммов вируса Залив Терпения (ZTV – *Zaliv Terpeniya virus*) (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*, антигенный комплекс Укуниеми), изолированного в высоких широтах Северной Евразии из облигатных эктопаразитов чистиковых птиц (*Alcidae* Leach, 1820) – клещей *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae* White, 1852 и от комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889 в субтропиках Закавказья

фГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва

В работе методом полногеномного секвенирования определены нуклеотидные последовательности генома двух вирусов LEIV-13841Ka (ID GenBank KF767463-65) и LEIV-279Az (ID GenBank KF767460-62), которые на основании филогенетического анализа классифицированы нами как штаммы вируса Залива Терпения (ZTV – *Zaliv Terpeniya virus*). LEIV-13841Ka изолирован от клещей *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae* White, 1852 на острове Арий Камень (Командорские острова) в 1986 г. Второй изученный изолят LEIV-279Az, по данным первичной серологической идентификации охарактеризованный как вирус Укуниеми (UUKV – *Uukuniemi virus*), изолирован из комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889, собранных в августе 1969 г. в колонии цапель (*Ardea Linnaeus*, 1758) в Азербайджане. Согласно проведенным исследованиям, LEIV-279Az также является изолятом ZTV. По RdRp LEIV-13841Ka и LEIV-279Az практически гомологичны (99%) ранее секвенированному штамму ZTV/LEIV-271Ka. На нуклеотидном уровне гомология L-сегмента с ZTV/LEIV-271Ka составляет 94 и 98% для LEIV-13841Ka и LEIV-279Az, по сегменту M – 89 и 88% соответственно. При этом по аминокислотной последовательности полипротеина Gn/Gc данные значения составляют 98,3 и 97,7%. По белку нуклеокапсида (NP) изученные штаммы ZTV/LEIV-13841Ka и LEIV-279Az обладают 88,7 и 84,6% гомологии с ZTV/LEIV-271Ka и по аминокислотной и нуклеотидной последовательности соответственно. Таким образом, нами впервые охарактеризован изолят ZTV из субтропической зоны Закавказья, который был изолирован от комаров. Полученные данные позволяют расширить предполагаемый ареал ZTV и дополнить данные об экологии флебовирусов серогруппы Укуниеми и их эволюции.

Ключевые слова: *Bunyaviridae*; *Phlebovirus*; вирус Залив Терпения – ZTV; вирус Укуниеми – UUKV; высокие широты; колониальные морские птицы; *Alcidae*; *Ixodidae*; *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae*; *Culicinae*; *Culex modestus*; субтропики; Закавказье; метагеномный анализ; полногеномное секвенирование

Genetic characterization of the Zaliv Terpeniya virus (ZTV, *Bunyaviridae*, *Phlebovirus*, Uukuniemi serogroup) strains isolated from the ticks *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae* White, 1852, obligate parasites of the *Alcidae* birds, in high latitudes of Northern Eurasia and the mosquitoes *Culex modestus* Ficalbi, 1889, in subtropics Transcaucasus

*D. K. Lvov, S. V. Alkhovsky, M. Yu. Shchelkanov, A. M. Shchetinin, P. G. Deryabin, A. K. Gitelman,
E. I. Samokhvalov, A. G. Botikov*

D.I.Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Complete genome sequences were obtained for the LEIV-13841Ka (ID GenBank KF767463-65) and LEIV-279Az (ID GenBank KF767460-62) virus strains, which were classified as different strains of the Zaliv Terpeniya virus (ZTV). LEIV-13841Ka was isolated from the ticks *Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae* White, 1852 collected on Ariy Kamen (Commander Islands) in 1986. LEIV-279Az was isolated from the mosquitoes *Culex modestus* Ficalbi, 1889, collected in heron colony (*Ardea Linnaeus*, 1758) in Azerbaijan (1969) and was initially identified as Uukuniemi virus (UUKV). According to the results obtained LEIV-279Az is ZTV strain as well. LEIV-13841Ka and LEIV-279Az RdRp sequences have high level of homology (99 %) with previously sequenced ZTV/LEIV-271Ka. The L-segment nucleotide sequences are homological with ZTV/LEIV-271Ka on the level of 94% and 98% for LEIV-13841Ka and LEIV-279Az, respectively; M-segment – 89% and 88%, respectively. Such homologies for the amino acid sequences of Gn/Gc polyprotein are 98.3 % and 97.7 %. NP proteins of ZTV/LEIV-13841Ka and LEIV-279Az have 88.7 % and 84.6 % homologies with ZTV/LEIV-271Ka both for amino acid and nucleotide sequences, respectively. Thus, for the very first time we demonstrated ZTV strain isolated from mosquitoes in subtropical Transcaucasia zone. Obtained results permit to expand suggested areal of ZTV and to fill up data upon the ecology of the Uukuniemi virus group.

Контактная информация:

Львов Дмитрий Константинович, акад. РАН; e-mail: dk_lvov@mail.ru

Прототипный штамм вируса Залив Терпения (ZTV – *Zaliv Terpeniya virus*) ZTV / LEIV-21C был впервые изолирован из иксодовых клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852, собранных в августе 1969 г. на острове Тюлений в заливе Терпения акватории Охотского моря (48°29' с.ш., 144°38' в.д.), в подстилке гнездовой колонии тонкоклювых кайр *Uria aalge* Pontopiddan, 1763 (*Alcidae* Leach, 1820) [1, 2].

За рубежом в близких экологических условиях были изолированы родственные вирусы: Гран-Арбо (GAV – *Grand Arbaud virus*) от *Argas reflexus* Fabricius, 1794, собранных в январе 1966 г. в голубятне в местности Камарг (устье реки Роны, Франция) [3], и Прекариус-Пойнт (PPV – *Precarious Point virus*) из клещей *I. uriae*, собранных в ноябре 1975 г. в колонии пингвинов на островах Маккуори в южной части Тихого океана (Австралия) (54°30' ю.ш., 159°00' в.д.) [4].

По данным предварительного изучения методом электронной микроскопии, ZTV был отнесен к сем. *Bunyaviridae*, методом РСК – к антигенному комплексу Укуниемии (UUKV – *Uukuniemi virus*) из рода *Phlebovirus*, однако при использовании реакции нейтрализации не удалось выявить связи между ZTV и UUKV [1, 2]. Секвенирование штамма ZTV/LEIV-271Ka из *I. uriae*, собранных в гнездовых колониях чистиковых птиц (*Alcidae* Leach, 1820) на острове Арий Камень в августе 1970 г., показало принадлежность этого вируса к группе Укуниемии (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*) [5].

UUKV впервые изолирован из клещей *I. ricinus* Linnaeus, 1758, собранных в 1960 г. с коров в юго-восточной Финляндии [6]. Изолят LEIV-279Az, по данным первичной серологической идентификации охарактеризованный как UUKV, изолирован из комаров *Culex modestus* Ficalbi, 1889, собранных в августе 1969 г. в колонии цапель (*Ardea* Linnaeus, 1758) Кызылагачского заповедника, в юго-восточной части Азербайджана [7]. Аналогичные по антигенным свойствам изоляты известны от черного дрозда (*Turdus merula* Linnaeus, 1758) (1968 г.; штамм LEIV-540Az) [7, 8] и клещей *I. ricinus* (1969 г.; штамм LEIV-810Az), собранных в предгорных лесах Талыша на юго-востоке Азербайджана [9].

В настоящей работе мы определили полные нуклеотидные последовательности генома двух изолятов, которые на основании филогенетического анализа отнесли к ZTV. Один изученный штамм LEIV-13841Ka изолирован от клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852 на острове Арий Камень (Командорские острова) в сентябре 1986 г. Второй изученный штамм LEIV-279Az (первоначально охарактеризованный как UUKV), согласно данным проведенных исследований, также является ZTV. Таким образом, нами впервые охарактеризован изолят ZTV из субтропической зоны Закавказья, который был изолирован от комаров. Полученные результаты позволяют расширить предполагаемый ареал ZTV и дополнить данные об экологии флебовирусов серогруппы Укуниемии и их эволюции.

Материалы и методы

Вирусные штаммы. Работы с инфекционным материалом, связанные с получением и накоплением вируса, проводили в боксовых помещениях, оборудованных и сертифицированных для работы с микроорганизмами 2-й группы патогенности. Использованные в работе вирусы LEIV-13841Ka и LEIV-279Az получены из Государственной коллекции вирусов РФ при ФГБУ «НИИ виру-

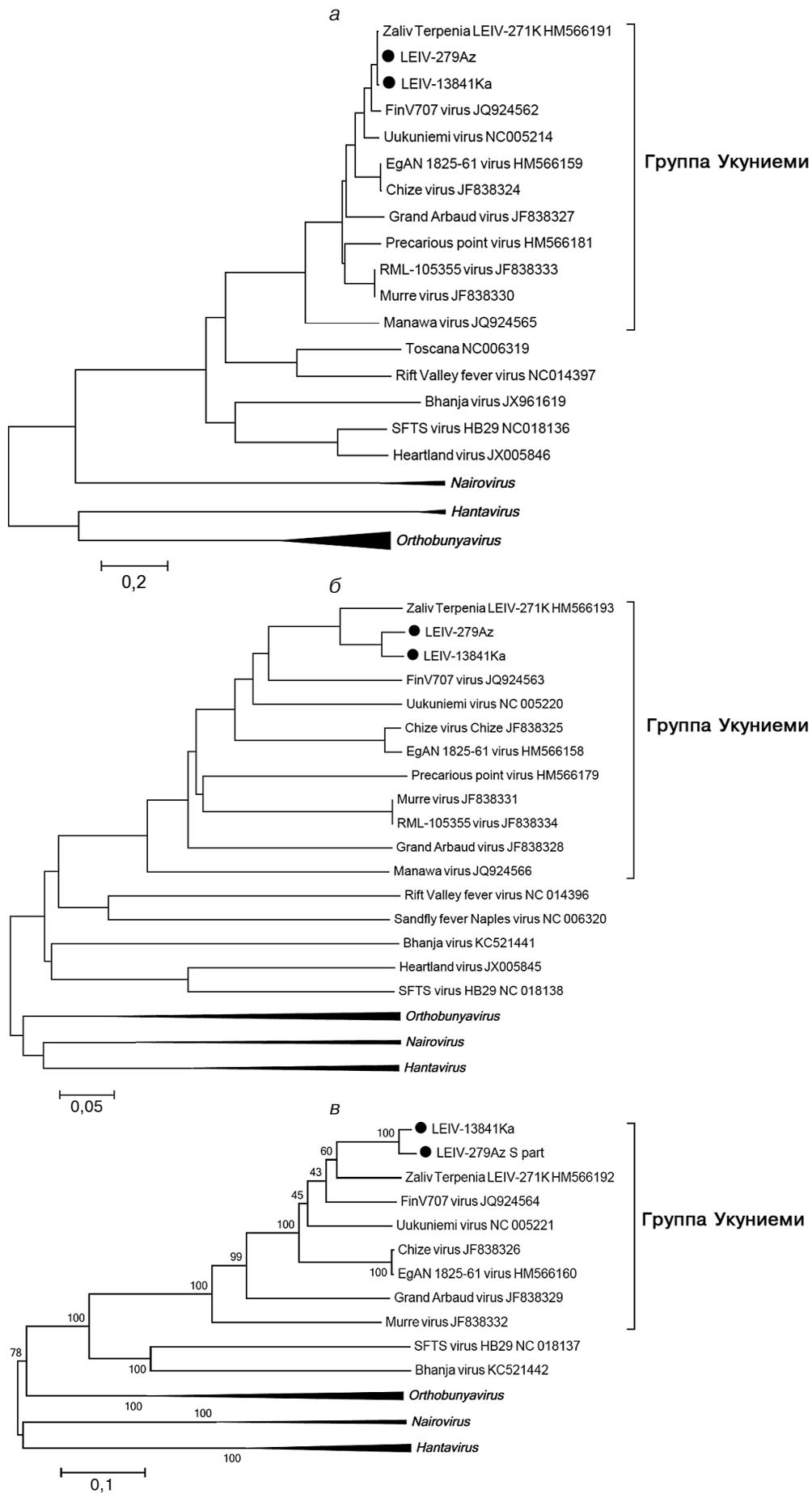
сологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России в виде лиофилизированной мозговой суспензии. Для накопления вируса лиофилизированную суспензию восстановили в 1 мл культуральной среды ДМЕМ (с добавлением антибиотика) и использовали для интрацеребрального заражения новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–3 сут) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

Выделение РНК. Фрагменты мозга (около 30 мг) помещали в 1 мл реагента TRIzol ("Life Technology", США) и гомогенизировали пластиковым пестиком. Далее выделяли РНК согласно прилагаемой инструкции производителя данного реагента. Конечный осадок суммарной РНК растворяли в 100 мкл DEPC-обработанной воды. Для дополнительной очистки, а также для удаления низкомолекулярных фракций рибосомальной (5S) и транспортной РНК полученный препарат очищали набором "RNeasy mini kit" (QIAGEN, Германия) в режиме clean-up на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с использованием флуориметра Qubit ("Invitrogen", США). Для удаления рибосомальной (18S и 28S) РНК использовали набор "GenRead rRNA depletion Kit" (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Для этого брали не более 3 мкг суммарной РНК. Эффективность деплеции достигала 50–80%, и, таким образом, количество полученной РНК для дальнейшего анализа составило около 300 нг.

Подготовка ДНК-библиотек и секвенирование. Для получения кДНК около 100 нг деплецированной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы с гексапраймером при 85 °С в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium ("Thermo Scientific", США) и 20 ед. ингибитора RNаз RNasin ("Promega", США). Инкубировали при 25 °С в течение 10 мин, далее при 42 °С в течение 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70 °С в течение 10 мин. Синтез второй цепи кДНК проводили с использованием набора "NEBNext[®] mRNA Second Strand Synthesis Module" (NEB, США) в соответствии с инструкцией. Полученную дцДНК очищали с использованием набора "MinElute PCR Purification Kit" (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube.

Для получения ДНК-библиотек из дцДНК использовали набор "TruSeq DNA Sample Prep Kits v2" ("Illumina", США) в соответствии с инструкцией. Для селекции ДНК по размеру использовали реагент "AMPure XP" ("Beckman Coulter", США) с расчетом получения ДНК-библиотек длиной более 270 н.о., что соответствует размеру вставки около 150 н.о. Данные требования к размеру ДНК-библиотек связаны с использованием для секвенирования набора, позволяющего секвенировать не более 150 н.о. в одну сторону. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза "QIAxcel Advanced System" (QIAGEN, Германия). Молярность полученных библиотек измеряли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве "Sequencing Library qPCR Quantification Guide" ("Illumina", США).

Секвенирование ДНК-библиотек осуществляли на приборе MiSeq ("Illumina", США) с использованием на-



Дендрограммы, построенные на основе сравнения нуклеотидных последовательностей буньявирусов животных.
 а – L-сегмент (RdRp); б – M-сегмент (Gn/Gc); в – S-сегмент (NP).

бора "MiSeq Reagent Kits v2 (300PE)" в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов проводили, используя программу "CLC Genomics Workbench 5.5" ("CLC bio", США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили с использованием сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ "Lasergene Core Suite" ("DNASTar", США). Филогенетический анализ и построение дендрограмм осуществляли с помощью программы MEGA5 по методу ближайшего соседа с 1000-кратным бутстреп-тестированием. Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму ClustalW.

Результаты и обсуждение

Вирусы рода *Phlebovirus* можно разделить на две экологические группы: 1) передаваемые кровососущими комарами (*Culicinae*) и москитами (*Phlebotominae*) (mosquito-borne); 2) передаваемые клещами (tick-borne). Между москитными и клещевыми флебовирусами уровень гомологии белков составляет всего около 30%, но они были объединены в один род благодаря наличию антигенных связей и общей структуре генома, который представлен тремя сегментами РНК негативной полярности: L (~ 6500 н.о.), M (~ 3300–4200 н.о.) и S (~ 1800 н.о.). Прототипным вирусом москитных флебовирусов является вирус лихорадки долины Рифт (RVFV – *Rift Valley Fever virus*), а клещевых – вирус Укуниемы (UUKV). В целом структура генома данных вирусов совпадает, включая размер и канонические концевые последовательности, однако существуют различия в строении их М-сегмента. У клещевых флебовирусов за счет отсутствия неструктурного белка NSm длина М-сегмента короче. Филогенетически флебовирусы также четко разделяются на две ветви в соответствии с указанными экологическими особенностями. К клещевым флебовирусам, кроме группы UUKV, относятся также вирусы серогруппы Бханджа (BHAV – *Bhanja virus*), вирус лихорадки с синдромом тромбоцитопении (SFTSV) и вирус *Heartland* (HERV), которые формируют отдельные кластеры (см. рисунок).

Согласно G. Palacios и соавт. [5], в серогруппу UUKV входит 15 вирусов, однако с накоплением геномных и серологических данных статус некоторых вирусов может быть пересмотрен. На основе антигенных связей все известные клещевые флебовирусы предлагается объединить в серогруппу UUKV и выделить внутри нее семь видов: UUKV (включает ZTV, CHZV – *Chize virus*, FINV – *Fin virus*, и EGAV – *EgAN virus*), *Murre virus* (MURV; также включает SCAV – *Sunday Canyon virus*, и RML-virus), SFTSV, *Manawa virus* (MNWV), *Grand Arbaud virus* (GAV), BHAV и PPV [5].

ZTV изначально был охарактеризован как вирус, антигенно близкий вирусу UUKV [1]. Согласно генетическим данным, ZTV обладает с UUKV гомологией 78 и 92% по нуклеотидной и аминокислотной последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp), которая является наиболее консервативным геном буньявирусов. Изученные в настоящей работе изоляты LEIV-13841Ka и LEIV-279Az по RdRp практически гомологичны (99%) ранее изолированному штамму ZTV/LEIV-271Ka. На нуклеотидном уровне гомология L-сегмента с LEIV-271Ka составляет 94 и 98% для LEIV-13841Ka и LEIV-279Az соответственно. Основываясь на полученных данных, вирусы LEIV-13841Ka и LEIV-279Az мы классифицировали как изоляты ZTV (см. рисунок, а).

Гомология LEIV-13841Ka и LEIV-279Az по сегменту М с ранее секвенированным штаммом LEIV-271Ka составляет 89 и 88% соответственно. При этом по аминокислотной последовательности полипротеина Gn/Gc данные значения составляют 98,3 и 97,7%. По белку нуклеокапсида (NP) изученные штаммы ZTV LEIV-13841Ka и LEIV-279Az обладают 88,7 и 84,6% гомологии с LEIV-271Ka и по аминокислотной и нуклеотидной последовательности соответственно. Таким образом, генетическая дистанция между различными изолятами ZTV, выделенными в разных географических зонах, составляет не более 26%. Нужно отметить, что ближайшим к ZTV вирусом является FINV, изолированный в Норвегии. Гомология по аминокислотной последовательности белка NP между ними составляет 93,3%. По оболочечным белкам Gn/Gc и полимеразе RdRp гомология FINV и ZTV не превышает 75 и 80% соответственно (см. рисунок, б, в).

На шельфе и островах в акватории Охотского, Берингова и Баренцева морей из *I. uriae*, собранных в гнездовых морских колониальных птиц, были изолированы в общей сложности 66 штаммов ZTV. При этом зараженность клещей в европейской части ареала в 6,5 раза выше, чем в дальневосточной (см. таблицу) [10–20]. Два штамма ZTV были изолированы из *I. signatus* Vigula, 1895, собранных на острове Арий Камень (Командорские острова) (55°13' с.ш., 165°48' в.д.), но зараженность этого вида клещей не превышает 1:10 000 (< 0,01%) [17].

Природные очаги ZTV и UUKV, связанные с кровососущими комарами (*Culicinae*), обнаружены на континентальных территориях в европейской части России, в Мурманской области [18–21]. UUKV изолирован от комаров *Aedes flavescens* Müller, 1764 и *Ae. punctor* Kirby, 1828 на западе Украины [22], а также на границе Польши и Белоруссии [23].

UUKV широко распространен в средне- и южнотажном поясах Фенноскандии и прилегающих районах Русской равнины. В среднетаежных ландшафтах восточной Фенноскандии изолированы 12 штаммов UUKV от иксодовых клещей *I. ricinus*, зараженность которых достигает 0,5 %, и 1 штамм – от комаров *Ae. communis* [12, 14]. В 1979 г. из клещей *I. persulcatus* Schulze, 1930, собранных в Белозерском районе Вологодской области, выделены 3 штамма UUKV [15, 24]. В 1970–1971 гг. из клещей *I. ricinus* Linnaeus, 1758, собранных на территории Литвы и Эстонии, выделены 28 штаммов UUKV [12, 14, 19, 25]. При серологическом обследовании 1004 человек в Литве с помощью РПГА выявлено от 1,8 до 20,9% положительных [26]. UUKV выделен от птиц, клещей *I. ricinus* в Западной Украине [22].

Клещи *I. ricinus* Linnaeus, 1758 так же, как *I. persulcatus* Schulze, 1930, *I. pavlovskiyi* Pomerantzev, 1946, *I. nipponensis* Kitaoka et Saito, 1967, *I. kashmiricus* Pomerantzev, 1948, *I. kazakstani* Olenov et Sorokoumov, 1934 в нашей фауне *I. granulatus* Supino, 1897, *I. nuttallianus* Schulze, 1930, *I. hyatti* Clifford, Hoogstraal et Kohls, 1971 за рубежом образуют одну филогенетическую ветвь в пределах подрода *Ixodes*. Происхождение этой группы видов связано с Юго-Восточной Азией. Зоогеографические данные свидетельствуют о возникновении *I. ricinus* в палеоцене и тесной связи этого вида с поясом мезофильных лесов [27]. В настоящее время этот вид населяет смешанные и широколиственные леса от восточного побережья Атлантического океана до Среднего Поволжья. Результаты сравнительного онтогенетического анализа позволили установить тесные связи этого вида с видами южной ветви группы *I. persulcatus* (*I. kazakstani*, *I. kashmiricus*, *I. nipponensis*, *I. hyatti*) и через них с *I. pavlovskiyi* и далее с *I. persulcatus*. Предполагается,

Изоляция штаммов ZTV из облигатных паразитов чистиковых птиц (*Alcidae*) – клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852 – в бассейнах Охотского, Берингова и Баренцева морей

Результат обследования клещей	Дальний Восток				Европа
	бассейн Охотского моря		бассейн Берингова моря		бассейн Баренцева моря
	Сахалинская область		Камчатский край	Чукотский АО	Мурманская область
	остров Тюлений (48°29' с.ш., 144°38' в.д.)	остров Ионы (56°24' с.ш., 143°23' в.д.)	остров Арий Камень (Командорские острова) (55°13' с.ш., 165°48' в.д.)	побережье пролива Беринга (64°50' с.ш., 173°10' з.д.)	остров Харлов близ Кольского полуострова (68°49' с.ш., 37°19' в.д.)
Количество штаммов	3	2	20	0	41
Уровень вирусофорности, %	0,022	0,103	0,096	< 0,087	0,456
Итого ...					
обследовано клещей			35 725		8994
количество штаммов			25		41
уровень вирусофорности, %			0,070		0,456

Примечание. АО – автономный округ.

что в плиоцене ареал *I. ricinus* простирался далее на восток, а в плейстоцене получил распространение вместе с широколиственными и смешанными лесами к западу под давлением тайги с севера и степей с юга [27]. Но и в настоящее время вид сохранил связь с ландшафтами, включающими плиоценовые элементы флоры [12]. К периоду формирования современного ареала вида на севере уже существовала экосистема, включающая биоценозы с чистиковыми птицами (*Alcidae* Leach, 1820), клещами *I. uriae* и, возможно, ZTV. По мере адаптации ZTV к комарам и клещам *I. ricinus* в пределах средне- и южно-таежных ландшафтов и могло произойти формирование UUKV и других представителей этой группы с их дальнейшим распространением в прочих экосистемах, в том числе в Закавказье.

ZTV, вероятно, обладает более выраженной способностью к репликации в организме комаров, активность которых в условиях Субарктического климатического пояса (тундровые ландшафты) наблюдается в июле – первой половине августа при температурах, достаточных для накопления вируса в слюнных железах гематофагов в титрах, допускающих трансмиссивную передачу [12, 17]. В этот период абсолютно доминируют циркумполярные виды *Ae. communis* De Geer, 1776, *Ae. punctor* Kirby, 1828, *Ae. hexodontus* Dyar, 1916, *Ae. impiger* Walker, 1848, *Ae. nigripes* Zetterstedt, 1838, в меньшем количестве встречаются *Culiseta alaskaensis* Ludlow, 1906 – чрезвычайно агрессивный в отношении человека. Два штамма ZTV изолированы от комаров *Ae. communis* в тундре Кольского полуострова [12]. При этом по результатам РН среди людей, проживающих в тундровом ландшафте, у 3,3% обнаружены антитела к ZTV, тогда как в лесотундре такие антитела не выявлены [12]. Эти данные свидетельствуют о заражении людей ZTV при его трансмиссивной передаче комарами.

Зараженность ZTV нимф и имаго клещей *I. uriae* в 5 и 13 раз соответственно, ниже, чем имаго. Относительно высокий уровень вирусофорности личинок свидетельствует о высокой (8–10%) частоте трансвариальной передачи вируса [12, 13, 17]. Комплементсвязывающие антитела к ZTV найдены у тонкокловых кайр (*Uria aalge*) на Командорских островах в 1%, а на европейской части (Мурманская область) – в 6%, у обыкновенных моевок (*Rissa tridactyla*, 1758) – в 4%, а также у полевко-экономок (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776) – в 1% [12, 13, 17]. Грызуны могут заражаться от погибших от инфекции птиц и в результате передачи ZTV комарами [12, 13, 17]. Данные серологического обследования подтверждают результаты вирусологических исследований о существенно более высокой активности природных очагов ZTV на севере европейской части по сравнению с таковой дальневосточной части ареала. Антитела к ZTV

в РСК на Командорских островах найдены у 1% кайр; на северном побережье Кольского полуострова – у 6% толстокловых кайр (*Uria lomvia* Linnaeus, 1758), у 7% обыкновенных моевок (*Rissa tridactyla* Linnaeus, 1758), а также у 1% грызунов полевко-экономок (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776) [12, 13].

В условиях южного Азербайджана ZTV циркулирует в системе птицы – клещи *I. ricinus* с зимней резервацией вируса в клещах. К основному природному очагу примыкают зависимые сезонные очаги в местах скопления колониальных гнездящихся птиц с сезонной циркуляцией вируса.

Зондирование территории в высоких широтах Российской Федерации и Закавказья проводили в рамках Программы по биобезопасности и изучению биоразнообразия в различных экосистемах Северной Евразии [10–21, 28], а также для пополнения базы данных по Государственной коллекции вирусов Российской Федерации.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-04-01749а.

ЛИТЕРАТУРА

- Lvov D.K., Timopheeva A.A., Gromashevski V.L., Gostinshchikova G.V., Veselovskaya O.V., Chervonski V.I. et al. «Zaliv Terpeniya» virus, a new Uukuniemi group arbovirus isolated from *Ixodes (Ceratiixodes) putus* Pick.-Camb. 1878 on Tyuleny Island (Sakhalin region) and Commodore Islands (Kamchatsk region). Arch. Ges. Virusforsch. 1973; 41 (3): 165–9.
- Zaliv Terpeniya virus – ZTV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1119–20.
- Grand Arbaud virus – GAV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 427–8.
- Precarious Point virus – PPV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 829–30.
- Palacios G., Savji N., da Rosa A.T., Guzman H., Yu X., Desai A. et al. Characterization of the Uukuniemi virus group (Phlebovirus: Bunyaviridae): evidence for seven distinct species. J. Virol. 2013; 87 (6): 3187–95.
- Uukuniemi virus – UUKV. In: Karabatsos N., ed. International Catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1063–4.
- Гайдамович С.Я., Обухова В.Р., Мельникова Е.Э., Клисенко Г.А., Громашевский В.Л. Серологическая идентификация вируса Сумах как представителя группы Укуниими. В кн.: Вопросы медицинской вирусологии. М.: АМН СССР; 1971; вып. 11: 93–5.
- Громашевский В.Л., Червонский В.И., Никифоров Л.П. Особенности выделенного от черных дроздов *Turdus merula* в юго-восточном Азербайджане вируса Сумах из группы Укуниими. В кн.: Вопросы медицинской вирусологии. М.: АМН СССР; 1971; вып. 11: 98–9.
- Никифоров Л.П., Громашевский В.Л., Веселовская О.В. О природных очагах вируса Укуниими на юго-востоке Азербайджана. В кн.: Львов Д.К., ред. Экология вирусов. М.: АМН СССР; 1973; вып. 1: 122–5.

10. Львов Д.К., Смирнов В.А., Громашевский В.Л., Веселовская О.В., Лаврова Н.А. Выделение арбовируса Залив Терпения из клещей Ixodes (Ceratiixodes) putus Pick.-Camb. 1878 в Мурманской области. Медицинская паразитология. 1973; 6: 728–30.
11. Lvov D.K., Timopheeva A.A., Smirnov V.A., Gromashevsky V.L., Sidorova G.A., Nikiforov L.P. et al. Ecology of tick-borne viruses in colonies of birds in the USSR. Med. Biol. 1975; 53 (5): 325–30.
12. Lvov S.D. Natural virus foci in high latitudes of Eurasia. In: Sov. Med. Rev. Sec. E: Virol. Rev. Harwood (USA): Ac. Publ. GmbH; 1993; 3: 137–85.
13. Львов С.Д. Арбовирусы в высоких широтах. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Медицина; 1989: 269–89.
14. Lvov D.K., Gromashevski V.L., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Gofman Y.P., Zhdanov V.M. et al. Arboviruses of high latitudes in the USSR. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York et al.: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979; ch 3: 21–38.
15. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral. Boca Raton et al.: CRC Press; 1994: 237–60.
16. Тимофеева А.А., Погрёбенко А.Г., Громашевский В.Л., Щербина Р.Д., Евсеева Т.И., Львов Д.К., Сазонов А.А. Очаговость природных инфекций на острове Ионы в Охотском море. Зоологический журнал. 1974; 53 (6): 306–11.
17. Львов Д.К. Природные очаги связанных с птицами арбовирусов СССР. В кн.: Львов Д.К., Ильичев В.Д. Миграция птиц и перенос возбудителей инфекции. М.: Наука; 1979; гл. 2: 37–101.
18. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л. и др. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: МЗ РФ; 2001.
19. Lvov D.K. Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. In: Sov. Med. Rev. Ser. E: Virology Reviews. USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993; 5: 1–47.
20. Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К. Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов. Вестник РАМН. 2006; (2): 22–25.
21. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Скворцова Т.М. Штамм LEIV-11189Murm/1985. Депонент Государственной коллекции вирусов Российской Федерации № ГKB 759.
22. Виноград И.А., Гайдамович С.Я., Марушчак О.Г. Изоляция вирусов группы Укуниими из членистоногих и птиц в Черновицкой области. В кн.: Проблемы медицинской вирусологии. М.; 1991; т. 2: 116–21.
23. Самойлова Т.И., Вотяков В.И., Мишаев Н.П., Ходько Л.П., Федорчук Л.В., Воинов И.Н., Данилова Г.М. Обнаружение вируса Укуниими в Белоруссии. Вопросы вирусологии. 1973; 1: 111–2.
24. Изотов В.К., Журавлева М.Г., Кузьминская О.П., Мясников Ю.А., Каплина И.В. Выделение трех штаммов вируса Укуниими из клещей в Волгоградской области. В кн.: Чумаков М.П., ред. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов “Актуальные проблемы вирусологии и природноочаговых вирусных заболеваний”. М.: АМН СССР; 1972: 283–4.
25. Бычкова М.В., Сарманова Е.С., Михайлова И.С., Ливанова Г.П., Караванов А.С., Мотеюнас Л.И. и др. Изучение свойств штаммов вируса Укуниими, выделенных на территории Литовской и Эстонской ССР. В кн.: Чумаков М.П., ред. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов “Актуальные проблемы вирусологии и природноочаговых вирусных заболеваний”. М.: АМН СССР; 1972: 300.
26. Мотеюнас Л.И., Карасева П.С., Варгин В.В. Иммунологическая структура населения Литовской ССР к вирусу Укуниими. В кн.: Чумаков М.П., ред. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов “Актуальные проблемы вирусологии и природноочаговых вирусных заболеваний”. М.: АМН СССР; 1972: 302–3.
27. Филитнова Н.А. О видах группы Ixodes persulcatus (Parasitiformes, Ixodidae). Паразитология. 1973; 7: 3–13.
28. Львов Д.К., ред. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск: Методические рекомендации. М.: МЗ РФ, Федеральное Управление медико-биологических и экстремальных проблем, НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова РАМН; 1993.
- catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1119–20.
3. Grand Arbaud virus – GAV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 427–8.
4. Precarious Point virus – PPV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 829–30.
5. Palacios G., Savji N., da Rosa A.T., Guzman H., Yu X., Desai A. et al. Characterization of the Uukuniemi virus group (Phlebovirus: Bunyaviridae): evidence for seven distinct species. J. Virol. 2013; 87 (6): 3187–95.
6. Uukuniemi virus – UUKV. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some others viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1063–4.
7. Gaidamovich S.Y., Obuhova V.R., Melnikova E.E., Klisenko G.A., Gromashevsky V.L. Serological identification of Sumah virus as a member of Uukuniemi group. In: Problems of Medical Virology. Moscow: AMS USSR; 1971; vol. 11: 93–5 (in Russian).
8. Gromashevsky V.L., Chervonsky V.I., Nikiforov L.P. Features of Uukuniemi group Sumah virus, isolated from ouzels Turdus merula in southern-eastern part of Azerbaijan. In: Problems of Medical Virology. Moscow: AMS USSR; 1971; vol. 11: 98–9 (in Russian).
9. Nikiforov L.P., Gromashevsky V.L., Veselovskaia O.V. About natural foci of Uukuniemi virus in southern of Azerbaijan. In: Lvov D.K., ed. Ecology of Viruses. Moscow: AMS USSR; 1973; vol. 1: 122–5 (in Russian).
10. L'vov D.K., Smirnov V.A., Gromashevsky V.L., Veselovskaia O.V., Lavrova N.A. Isolation of Terpeniye Gulf arbovirus from Ixodes (Ceratiixodes) putus Pick-Camb., 1878 ticks in Murmansk Province. Med. Parazitol. 1973; 6: 728–30 (in Russian).
11. Lvov D.K., Timopheeva A.A., Smirnov V.A., Gromashevsky V.L., Sidorova G.A., Nikiforov L.P., et al. Ecology of tick-borne viruses in colonies of birds in the USSR. Med. Biol. 1975; 53 (5): 325–30 (in Russian).
12. Lvov S.D. Natural virus foci in high latitudes of Eurasia. In: Sov. Med. Rev. Sec. E: Virol. Rev. Harwood (USA): Ac. Publ. GmbH; 1993; 3: 137–85.
13. Lvov S.D. Arboviruses in high latitudes. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Y. (eds.) Arboviruses and arbovirus infection. M.: Meditsina; 1989: 269–89 (in Russian).
14. Lvov D.K., Gromashevski V.L., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Gofman Y.P., Zhdanov V.M. et al. Arboviruses of high latitudes in the USSR. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York et al. Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979; ch. 3: 21–38.
15. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral. Boca Raton et al.: CRC Press; 1994: 237–60.
16. Timofeeva A.A., Pogrebenko A.G., Gromashevskii V.L., Scherbina R.D., Evseeva T.I., Lvov D.K., Sazonov A.A. Natural foci of infection on the Iona island in Okhotsk sea. Zoologicheskii journal. 1974; 53 (6): 306–11 (in Russian).
17. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses, associated with the birds in USSR. In: Lvov D.K., Ilyichev V.D. Migration of the birds and transduction of contagium. Moscow: Nauka; 1979; chapter 2: 37–101 (in Russian).
18. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L. et al. Atlas of distribution of natural-focal viruses infection on the territory of Russian Federation. M.: Minzdrav RF; 2001 (in Russian).
19. Lvov D.K. Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. In: Sov. Med. Rev. Ser. E: Virology Reviews. USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993; 5: 1–47.
20. Schelkanov M. Yu., Gromashevsky V. L., Lvov D. K. The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. Vesstn. Ross. Acad. Med. Nauk. 2006; (2): 22–5 (in Russian).
21. Lvov D.K., Gromashevsky V.L., Skvortsova T.M. The strain LEIV-11189Murm/1985. Deposition of State Collection of the Viruses № 759 (in Russian).
22. Vinograd I.A., Gaidamovich S.Ya., Marushchak O.G. Isolation of Uukuniemi group viruses from arthropods and birds in Chernovitskay district. In: Problems of medical virology. Moscow; 1991; 2: 116–21 (in Russian).
23. Samoilova T.I., Votyakov V.I., Mishaev N.P., Hod'ko L.P., Fedorchuk L.V., Voinov I.N., Danilova G.M. Detection of Uukuniemi virus in Belorussia. Voprosi Virusologii. 1973; 1: 111–2 (in Russian).
24. Isotov V.K., Zhuravleva M.G., Kuzminskaya O.P., Myasnikov Yu.A.,

REFERENCES

1. Lvov D.K., Timopheeva A.A., Gromashevski V.L., Gostinshchikova G.V., Veselovskaya O.V., Chervonski V.I. et al. «Zaliv Terpeniya» virus, a new Uukuniemi group arbovirus isolated from Ixodes (Ceratiixodes) putus Pick.-Camb. 1878 on Tyuleniy Island (Sakhalin region) and Commodore Islands (Kamchatsk region). Arch. Ges. Virusforsch. 1973; 41 (3): 165–9.
2. Zaliv Terpeniya virus – ZTV. In: Karabatsos N., ed. International

- Kaplina I.V.* Isolation of three Uukuniemi virus strains from ticks in Volgograd district. In: Chumakov M.P., ed. Proceeding of the Institute of poliomyelitis and viral encephalitis «Actual problems of virology and natural-foci viral infection». Moscow: Academy of Medical Science USSR; 1972: 283–4 (in Russian).
25. *Bichkova M.V., Sarmanova E.S., Michailova I.S., Livanova G.P., Karavanov A.S., Moteyunas L.I.* et al. Studies of Uukuniemi virus strains, isolated in Lithuanian SSR and Estonian SSR. In: Chumakov M.P., ed. Proceeding of the Institute of poliomyelitis and viral encephalitis «Actual problems of virology and natural-foci viral infection». Moscow: AMS USSR; 1972: 300 (in Russian).
26. *Moteyunas L.I., Karaseova P.S., Vargin V.V.* Immunological structure of the population of Lithuanian SSR for Uukuniemi virus. In: Chumakov M.P., ed. Proceeding of the Institute of poliomyelitis and viral encephalitis «Actual problems of virology and natural-foci viral infection». Moscow: AMS USSR; 1972: 302–3 (in Russian).
27. *Filippova N.A.* About the species of *Ixodes persulcatus* (Parasitiformes, Ixodidae) group. *Parazitology*. 1973; 7: 3–13 (in Russian).
28. *Lvov D.K.*, red. Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army. M.: Minzdrav RF, The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993 (in Russian).

Поступила 16.10.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 578.833.2:578.5].083.2

Д.К. Львов, С.В. Альховский, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, Е.И. Самохвалов, А.К. Гительман, А.Г. Ботиков

Генетическая характеристика вирусов из антигенного комплекса Тюлений (*Flaviviridae, Flavivirus*): Тюлений (*Tyuleny virus*), изолированного из облигатных эктопаразитов колониальных птиц – клещей *Ixodes (Ceraticxodes) uriae* White, 1852, собранных в высоких широтах Северной Евразии, – и Кама (*KAMV – Kama virus*), изолированного из клещей *Ixodes lividus* Roch, 1844, собранных в норových колониях птиц в средней части Русской равнины

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва

Проведено генетическое изучение вирусов Тюлений (*TyUV – Tyuleny virus*) (ID GenBank KF815939), изолированных в высоких широтах от клещей *Ixodes uriae* White, 1852, собранных в гнездовых чистиковых птиц (*Alcidae* Leach, 1820), и Кама (*KAMV – Kama virus*) (ID GenBank KF815940), изолированного от клещей *I. lividus*, собранных в гнездовых колониях птиц в средней части Русской равнины. Результаты сравнительного анализа полноразмерных последовательностей геномов выявили 70% гомологии *KAMV* и *TyUV* на нуклеотидном уровне и 74% – на аминокислотном. Таким образом, *KAMV* является новым вирусом комплекса *TyUV*, принадлежащего экологической группе передаваемых клещами вирусов морских птиц (*STBVG – seabird tick-borne virus group*), род *Flavivirus*, сем. *Flaviviridae*. *KAMV* является самостоятельным видом и формирует отдельную филогенетическую ветвь вместе с вирусами *TyUV*, Мибан (*MEAV – Meaban virus*) и Саумарец-Риф (*SREV – Saumarez Reef virus*).

Ключевые слова: высокие широты; Русская равнина; колониальные морские птицы; *Alcidae*; убежищные биоценозы; *Ixodidae*; *Flaviviridae*; *Flavivirus*; антигенный комплекс Тюлений; вирус Тюлений (*TyUV*); вирус Кама (*KAMV*); метагеномный анализ

Genetic characterization of viruses from the antigenic complex Tyuleny (*Flaviviridae, Flavivirus*): Tyuleny virus (*TyUV*) (ID GenBank KF815939) isolated from ectoparasites of colonial seabirds – *Ixodes (Ceraticxodes) uriae* White, 1852, ticks collected in the high latitudes of Northern Eurasia – and Kama virus (*KAMV*) isolated from the *Ixodes lividus* Roch, 1844, collected in the digging colonies of the middle part of Russian Plane

D. K. Lvov, S. V. Alkhovskiy, M. Yu. Shchelkanov, A. M. Shchetinin, P. G. Deryabin, E. I. Samokhvalov, A. K. Gitelman, A. G. Botikov

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Genetic research into the Tyuleny virus (*TyUV*) (ID GenBank KF815939) isolated in high latitudes from the *Ixodes uriae* White, 1852, ticks collected in the nesting colonies of the *Alcidae* (Leach, 1820) birds and Kama virus (*KAMV*) (ID GenBank KF815940) isolated from the *I. lividus* ticks collected in the nesting bird colonies in the middle part of the Russian Plane was carried out. Full-genome comparative analysis revealed 70% homology between *KAMV* and *TyUV* on the nucleotide level and 74% on the amino acid level. Thus, *KAMV* is a new member of the *TyUV* complex belonging to the seabird tick-borne virus group (*STBVG*) of *Flavivirus* (*Flaviviridae*). *KAMV* is a separate virus and forms separate phylogenetic line together with the *TyUV*, Meaban virus (*MEAV*), and Saumarez Reef virus (*SREV*).

Key words: high latitudes; Russian Plane; colonial seabirds; *Alcidae*; covering biocenosis; *Ixodidae*; *Flaviviridae*; *Flavivirus*; Tyuleny antigenic complex; Tyuleny virus (*TyUV*); Kama virus (*KAMV*); metagenomic analysis

Контактная информация:

Львов Дмитрий Константинович, акад. РАН; e-mail: dk_lvov@mail.ru