

**Пуховская Н.М.<sup>1</sup>, Морозова О.В.<sup>2,3</sup>, Белозерова Н.Б.<sup>1</sup>, Бахметьева С.В.<sup>1</sup>, Высочина Н.П.<sup>1</sup>, Здановская Н.И.<sup>1</sup>, Иванов Л.И.<sup>1</sup>**

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КОМАРОВ И КЛЕЩЕЙ

<sup>1</sup>ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, 680037, г. Хабаровск;

<sup>2</sup>ФГБУ «Федеральный центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» ФМБА России, 119435, г. Москва

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) штамм Лазо MP36 выделен из пула комаров *Aedes vexans*, отловленных в районе имени Лазо Хабаровского края в августе 2014 г. Филогенетический анализ нуклеотидной последовательности полноразмерного генома штамма Лазо MP36 (номер доступа в GenBank KT001073) показал его соответствие дальневосточному типу ВКЭ и отличия от штаммов: от клещей *Ixodes persulcatus* P. Schulze, 1930 (вакцинного штамма 205 (JX498939) и выделенных в 2012—2013 гг. штаммов Хехцир 1230 (KF880805), Чичаговка 1222 (KP844724), Биробиджан 1354 (KP844726)); от комаров (штамма Мальшево, изолированного в 1978 г. от *Aedes vexans nipponii* (KJ744034), и штамма Сахалин 6-11 сибирского типа ВКЭ, выделенного из пула комаров в 2011 г. (KF826916)); из мозга погибших людей (вакцинного штамма Софьин (KC806252), Глубинное/2004 (DQ862460), Кавалерова (FJ402885), Светлогорье (GU121642)). Пептид слияния, необходимый для проникновения флавивирусов в клетки, у трех штаммов ВКЭ, выделенных от комаров, — Лазо MP36, Мальшево и Сахалин 6-11 — сохранил каноническую структуру 98-DRGWGNHCGFLFGKGS-113 для флавивирусов, переносимых клещами. Аминокислотная замена H104G, типичная для флавивирусов, переносимых комарами, не обнаружена. Последовательности нетранслируемых областей генома штаммов ВКЭ от комаров гомологичны на 85—98% штаммам всех типов ВКЭ без рекомбинации с флавивирусами, переносимыми комарами и выявляемыми на территории Дальнего Востока России. Вторичные структуры 5'- и 3'-нетранслируемых областей генома, а также последовательности циклизации типов А и В консервативны у всех изолятов ВКЭ вне зависимости от биологических хозяев или переносчиков. Сходство структур геномов изолятов ВКЭ от комаров, клещей и больных людей при патогенности изолятов ВКЭ от комаров для новорожденных лабораторных мышей и их цитопатическом действии для культур клеток животных могут свидетельствовать о возможной роли комаров в качестве случайных или дополнительных переносчиков вируса.

Ключевые слова: *флавивирусы, переносимые клещами и комарами; филогенетический анализ полноразмерных кодирующих областей геномов; пептид слияния; нетранслируемые области; последовательности циклизации.*

*Для цитирования:* Пуховская Н.М., Морозова О.В., Белозерова Н.Б., Бахметьева С.В., Высочина Н.П., Здановская Н.И., Иванов Л.И. Сравнительный анализ геномов штаммов вируса клещевого энцефалита, выделенных от комаров и клещей. *Вопросы вирусологии.* 2017; 62(1): 30-35.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-1-30-35>

***Pukhovskaya N.M.<sup>1</sup>, Morozova O.V.<sup>2,3</sup>, Belozerova N.B.<sup>1</sup>, Bakhmetyeva S.V.<sup>1</sup>, Vysochina N.P.<sup>1</sup>, Zdanovskaya N.I.<sup>1</sup>, Ivanov L.I.<sup>1</sup>***

## COMPARATIVE ANALYSIS OF GENOMES OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS ISOLATED FROM MOSQUITOES AND TICKS

<sup>1</sup>Khabarovsk Antiplague Station, Khabarovsk, 680037, Russian Federation;

<sup>2</sup>Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation;

<sup>3</sup>Federal Research Clinical Center of Physico-Chemical Medicine, Moscow, 119435, Russian Federation

The tick-borne encephalitis virus (TBEV) strain Lazo MP36 was isolated from the pool of mosquitoes *Aedes vexans* collected in Lazo region of Khabarovsk territory in August 2014. Phylogenetic analysis of the strain Lazo MP36 complete genome (GenBank accession number KT001073) revealed its correspondence to the TBEV Far Eastern subtype and differences from the following strains: 1) from ticks *Ixodes persulcatus* P. Schulze, 1930 [vaccine strain 205 (JX498939) and strains Khekhtzir 1230 (KF880805), Chichagovka (KP844724), Birobidzhan 1354 (KF880805) isolated in 2012-2013]; 2) from mosquitoes [strain Malyshevo (KJ744034) isolated in 1978 from *Aedes vexans nipponii* in Khabarovsk territory; strain Sakhalin 6-11 isolated from the pool of mosquitoes in 2011 (KF826916)]; 3) from human brain [vaccine strain Sofjin (JN229223), Glubinnoe/2004(DQ862460), Kavalero (DQ862460), Svetlogorie (DQ862460)]. The fusion peptide necessary for flavivirus entry to cells of the three TBEV strains isolated from mosquitoes (Lazo MP36, Malyshevo and Sakhalin 6-11) has the canonical structure 98-DRGWGNHCGFLFGKGS-113 for the tick-borne flaviviruses. Amino acid transition H104G typical for the mosquito-borne flaviviruses was not found. Structures of 5'- and 3'-untranslated (UTR) regions of the TBEV strains from mosquitoes were 85-98% homologous to the TBEV strains of all subtypes without recombination with mosquito-

*Для корреспонденции:* Морозова Ольга Владимировна, д-р биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии Института вирусологии им. Д.И. Иванова ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: [omorozova2010@gmail.com](mailto:omorozova2010@gmail.com)

**borne flaviviruses found in the Far East of Russia. Secondary structures of 5'- and 3'-UTR as well as cyclization sequences (CS) of types A and B are highly homologous for all TBEV isolates independently of the biological hosts and vectors. Similarity of the genomes of the TBEV isolates from mosquitoes, ticks and patients as well as pathogenicity of the isolates for new-borne laboratory mice and tissue cultures might suggest a possible role of mosquitoes in the TBEV circulation in natural foci as an accidental or additional virus carrier.**

**Key words:** tick-borne and mosquito-borne flaviviruses; phylogenetic analysis of complete coding regions of genomes; fusion peptide; untranslated regions; cyclization sequences.

**For citation:** Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Belozeroва N.B., Bakhmetyeva S.V., Vysochina N.P., Zdanovskaya N.I., Ivanov L.I. Comparative analysis of genomes of tick-borne encephalitis virus strains isolated from mosquitoes and ticks. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(1): 30-35. (In Russ.).

DOI: [http://dx.doi.org/ 10.18821/0507-4088-2017-62-1-30-35](http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-1-30-35)

**For correspondence:** Olga V. Morozova, Dr. Sci. (Biol.), Senior research scientist, Laboratory of immunology, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Federal State Budgetary Institution «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation.

E-mail: [omorozova2010@gmail.com](mailto:omorozova2010@gmail.com)

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

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

Received 14 March 2016

Accepted 29 March 2016

## Введение

Семейство флавивирусов включает патогенные для человека и животных РНК-содержащие вирусы. Представителей рода *Flavivirus* традиционно делят на 3 группы: переносимые комарами, клещами и без известного переносчика. Их стабильная циркуляция в природных популяциях среди многочисленных позвоночных и беспозвоночных резервуарных хозяев не поддается регулируемому контролю [1]. В последние годы в мире обнаружили много флавивирусов, специфичных только для насекомых (insect-specific flaviviruses — ISFV), которые не могут реплицироваться в культурах клеток млекопитающих, поэтому их патогенность остается неизвестной, но ДНК-копии фрагментов их геномов обнаружены в составе хромосом комаров [2]. У членистоногих обнаружены вирусы, подобные флавивирусам (flavi-like viruses) по размерам, структурам и организации геномов с наиболее консервативными генами *NS3* и *NS5*, со сходной стратегией репликации, имеющие общего древнего предшественника [3]. Число флавивирусов, специфичных только для млекопитающих (mammal-only pegivirus-heracivirus group), также увеличивается [3]. Молекулярные маркеры флавивирусов, переносимых комарами и клещами, включают пептид слияния (fusion peptide) [4] и последовательности циклизации (cyclization sequences — CS) вблизи 5'- и 3'-концов геномной РНК [5].

В России наиболее распространен и изучен вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), который с 1937 г. считали флавивирусом, переносимым клещами. Клещи являются основными переносчиками и резервуарными хозяевами ВКЭ благодаря разнообразию их прокормителей среди позвоночных, внутриклеточному перевариванию крови, длинному жизненному циклу, превышающему продолжительность жизни мелких млекопитающих, а также трансвариальной и трансстадиальной передаче ВКЭ. Спонтанная инфицированность вирусом выявлена для 16 видов иксодовых клещей [6, 7].

Цель данной работы состояла в выделении, идентификации и сравнительном молекулярно-генетическом анализе ВКЭ от комаров.

## Материал и методы

**Сбор комаров.** В 2014 г. комаров отлавливали в Вяземском районе и районе имени Лазо Хабаровского

края. Виды комаров определяли по морфологическим признакам [8]. Было сформировано 38 пулов комаров в зависимости от вида, времени и места сбора [9]. Пул комаров *Aedes vexans*, из которого был изолирован штамм Лазо МР36, собран в августе 2014 г. в окрестностях с. Киинск района имени Лазо (47°59' с. ш., 134°47' в. д.).

**Выделение ВКЭ.** Новорожденным мышам ICR 1—2-дневного возраста интрацеребрально и подкожно вводили осветленные центрифугированием гомогенаты пулов комаров [9]. Последующее пассирование осуществляли также на новорожденных мышках-сосунках. Штамм Лазо МР36 был выделен от комаров в сентябре 2014 г.

**Выделение РНК** проводили с использованием набора для экстракции ДНК/РНК из сыворотки (плазмы) крови производства НПО «Литех» (Москва).

**Обратную транскрипцию (ОТ)** выполняли с использованием набора «Реверта L» производства ООО «ИнтерЛабСервис», г. Москва.

**ПЦР** проводили с праймерами [10, 11] и набором «АмплиСенс PCR» («ИнтерЛабСервис», г. Москва) с использованием амплификатора MyCycler («Bio-Rad Laboratories Headquarters», США).

**Определение нуклеотидных последовательностей** продуктов ОТ-ПЦР из мозговых суспензий второго пассажа ВКЭ осуществляли с праймерами для ПЦР [10, 11] и набором BigDye 3.1 с применением автоматического анализатора ДНК модели ABI 3500 («Applied Biosystems», США). Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей выполняли при помощи программного обеспечения Mega 6.06 (<http://www.megasoftware.net/>) с использованием 5 альтернативных алгоритмов при 1000 репликаций [12].

## Результаты

В 2014 г. выделен штамм Лазо МР36 из пула комаров *Aedes vexans*, собранных в районе имени Лазо Хабаровского края в период снижения весенне-летней активности иксодовых клещей и низкой заболеваемости населения этого региона клещевым энцефалитом [13; GenBank KT001073]. Филогенетический анализ полно-размерных кодирующих областей геномов ВКЭ показал сходство штамма Лазо МР36 со штаммами ВКЭ дальневосточного типа (рис. 1). Совпадение топологии филогенетических деревьев с применением 5 альтерна-

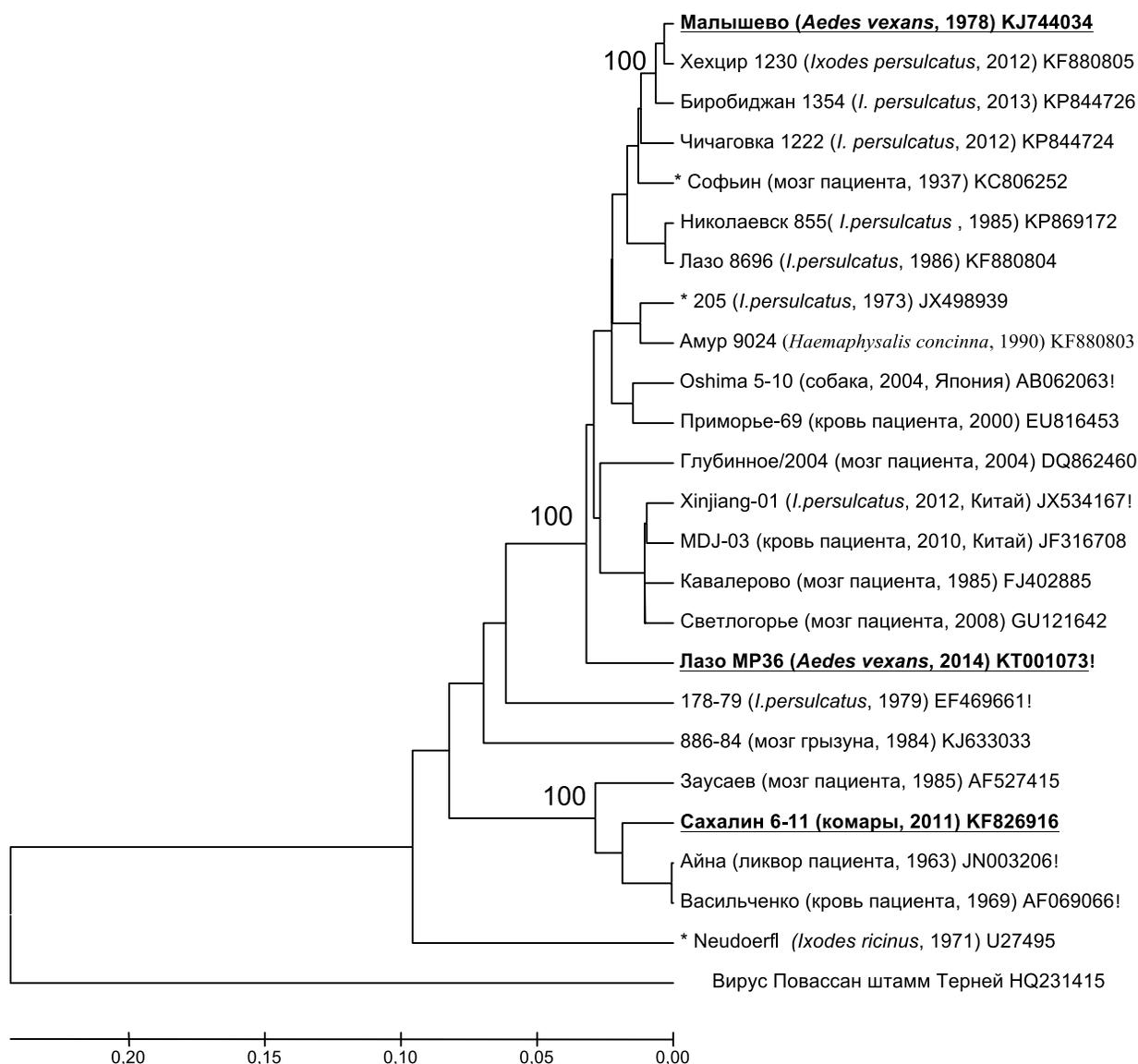


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей геномов штаммов, выделенных от комаров (подчеркнуты), клещей и пациентов (вакцинные штаммы дальневосточного и европейского типов отмечены звездочками) и относящихся к 5 генетическим типам ВКЭ (дальневосточному (1), европейскому (2), сибирскому (3), 178-79 (4) и 886-84 (5)), с помощью программного обеспечения Mega 6.06 [12], алгоритм UPGMA, 1000 репликаций. Внешняя группа — штамм Терней вируса Повассан, выделенный из мозга погибшего пациента на Дальнем Востоке России в 2006 г

тивных алгоритмов и высокие индексы поддержки клади- стических групп свидетельствуют о кластеризации вне зависимости от времени, места выделения штаммов и переносчика или хозяина ВКЭ. Штамм Лазо МР36 дальневосточного типа ВКЭ отличается от штаммов, выделенных нами в 2012—2013 гг. в Хабаровском крае (Хехцир 1230 (KF880805), Чичаговка 1222 (KP844724)) и Еврейской автономной области (Биробиджан 1354 (KP844726)), находящихся в одной группе с вакцин- ным штаммом Софьин, изолированным в пос. Обор района имени Лазо Хабаровского края в 1937 г. Штамм Лазо МР36 также отличается и от штаммов, выделен- ных в 1985—1990 гг. в Хабаровском крае (Николаевск 855 (KP869172) и Лазо 8696 (KF880804)), Амурской области (Амур 9024 (KF880803)), и от штамма Ошима 5-10 из Японии (AV062063) с группой филогенети- ски близких ему приморских штаммов (Приморье-69

(EU816453) и других) [10]. Несмотря на филогенети- ческую близость генома Лазо МР36 к третьей груп- пе дальневосточных штаммов из Китая (Xinjiang-01 (JX534167), MDJ-03 (JF316708)), а также штаммам из России Глубинное/2004 (DQ862460), Кавалерово (JQ650523) и Светлогорье (GU121642), выделенным от погибших людей в Приморье, достоверного родства также не отмечено. В то же время штамм Малышево от комаров [14; номер доступа в GenBank KJ744034] также дальневосточного типа ВКЭ филогенетически близок выделенным от клещей в 2012 г. штаммам Чи- чаговка 1222 (места сбора комаров и клещей в окрест- ностях озера Петропавловское Хабаровского края), Хехцир 1230 и вакцинному штамму Софьин. Третий штамм, изолированный из пула комаров, Сахалин 6-11 [15; GenBank KF826916], относится к подтипу Айна сибирского типа ВКЭ (см. рис. 1).

**Сравнение пептида слияния флавивирусов, переносимых клещами и комарами**

Флавивирусы	Пептид слияния
Переносимые комарами без вируса Денге	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>I</b>
Денге 1	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>L</b>
Денге 2	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>I</b>
Денге 3	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>L</b>
Денге 4	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>V</b>
Переносимые клещами:	
ВКЭ (штаммы от клещей, позвоночных и больных людей)	DRGWGN <b>H</b> CGLFGKGS <b>I</b>
штамм Малышево (1978) от <i>Aedes vexans</i>	DRGWGN <b>H</b> CGLFGKGS <b>I</b>
штамм Сахалин 6-11 (2011) от комаров	DRGWGN <b>H</b> CGLFGKGS <b>I</b>
штамм Лазо MP36 (2014) от <i>Aedes vexans</i>	DRGWGN <b>H</b> CGLFGKGS <b>I</b>
Повассан и вирус оленей	DRGW <b>H</b> N <b>G</b> CGFFGKGS <b>I</b>
Флавивирусы, специфичные для насекомых (ISFV):	
вирус Чаоянг	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>M</b>
вирус Чаоянг изолят HLD115 (JQ308185)	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>M</b>
вирус Чаоянг штамм ROK144 (JQ068102)	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>M</b>
вирус Чаоянг штамм Deming (FJ883471)	DRGWGN <b>G</b> CGLFGKGS <b>M</b>
<i>Aedes flavivirus</i> strain: Toyama-26 (AB488421)	DRLASQ <b>H</b> YHVRD <b>S</b> LK <b>S</b> G
<i>Culex flavivirus</i> (NC_008604)	DRT <b>F</b> PRIP <b>K</b> VHGV <b>K</b> IS <b>G</b>

Примечание. Серым фоном выделены аминокислотные остатки (а. о.) глицина и гистидина, характерные для консервативного пептида слияния флавивирусов, переносимых комарами и клещами соответственно. Жирным шрифтом выделены а. о., отличающиеся от канонической структуры пептида слияния флавивирусов.

**Сравнение пептида слияния штаммов ВКЭ, выделенных от комаров и клещей**

Проникновение флавивирусов в клетки опосредуется консервативным пептидом слияния, состоящим из 16 аминокислотных остатков (а. о.) в домене II гликопротеина оболочки вирионов E. Консервативность канонической структуры пептида слияния необходима для проникновения в клетки эволюционно удаленных беспозвоночных и позвоночных хозяев вируса с последующими рН-зависимыми конформационными изменениями [4]. Пептид слияния всех штаммов ВКЭ, выделенных от комаров, клещей, позвоночных хозяев или больных людей, сохраняет идентичную структуру DRGWGNHCGLFGKGS**I**, характерную для флавивирусов, переносимых клещами без аминокислотных замен (см. таблицу). В пептиде слияния флавивирусов, специфичных для насекомых (ISFV), а. о. G104 соответствует структурам этого пептида для флавивирусов от комаров, а M113 является характерным только для флавивирусов Чаоянг (см. таблицу). Необходимо отметить отсутствие канонической структуры пептида слияния в полипротеинах-предшественниках flavi-like вирусов (см. таблицу).

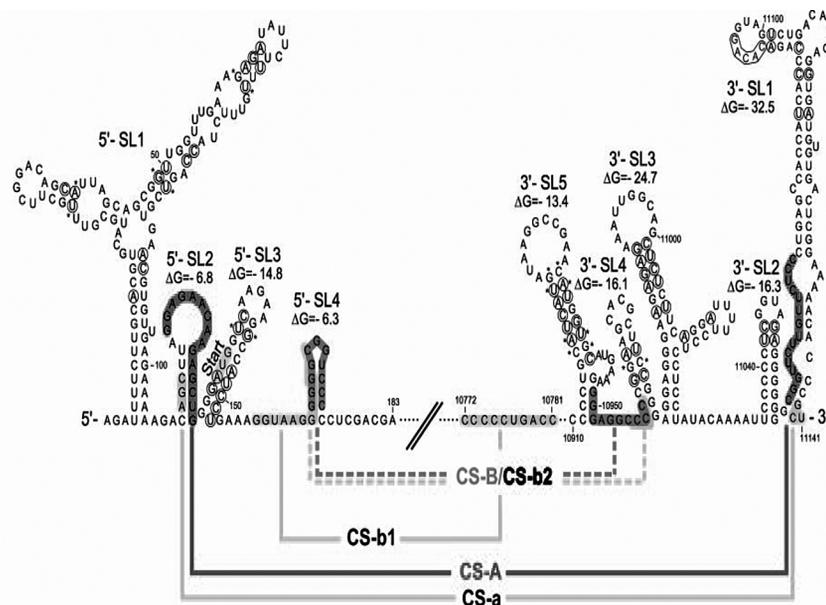
**Сравнение нетранслируемых областей генома и последовательностей циклизации штаммов ВКЭ, переносимых комарами**

При 85—98% гомологии нуклеотидных последовательностей нетранслируемых областей генома штаммов ВКЭ, выделенных от комаров, клещей, млекопитающих или больных людей, 3'-нетранслируемая область (untranslated region (UTR)) штамма Лазо MP36 составляет 727 нуклеотидных остатков (н.о.) с мини-делециями 1—2 н.о. при множественном выравнивании с аналогичными последовательностями других штаммов и не содержит ни протяженных делеций, ни олиго(А)-трактов в гипервариабельной области непосредственно после терминирующего кодона. Для двух других штаммов ВКЭ от комаров последовательности 3'UTR не депонированы в GenBank. Многочисленные термодинамически выгодные вторичные структуры 3'UTR штамма Лазо MP36, построенные с применением альтернативных алгоритмов, имеют  $\Delta G = -115,25 \div -110,47$  с выраженной шпильечно-петлевой архитектурой (рис. 2). Необходимо отметить протяженные делеции в 3'UTR штаммов Софьин, Глубинное/2004, MDJ-03 и Лазо 8696 (данные не представлены).

Последовательности циклизации 5'-CS-A и 3'-CS-A штамма Лазо MP36 ВКЭ идентичны описанным для вакцинного штамма Найдорф, выделенного в 1971 г. от *Ixodes ricinus* Linnaeus, 1758 и относящегося к эволюционно удаленному европейскому типу вируса [5] (см. рис. 2). Для двух других штаммов ВКЭ от комаров эти структуры расположены вне депонированных полных кодирующих областей генома (coding sequence (CDS)). Для второй пары CS-B, локализация которой соответствует флавивирусам, переносимым комарами, отмечены вариации нуклеотидных последовательностей между штаммом Найдорф и тремя штаммами ВКЭ, выделенными от комаров, при сохранении вероятности комплементарных взаимодействий между G- и C-богатыми фрагментами геномов (см. рис. 2).

**Обсуждение**

Со времени открытия в 1937 г. ВКЭ относят к флавивирусам, переносимым клещами. Однако единичные штаммы ВКЭ были выделены от комаров на Дальнем Востоке. Штамм Малышево дальневосточного типа ВКЭ выделен от комаров *Aedes vexans nipponii*, отловленных в 1978 г. на северном побережье озера Петропавловское в Хабаровском крае (48°40' с. ш., 135°40' в. д.). Штамм Сахалин 6-11 сибирского типа ВКЭ выделен из пула комаров, собранных на Сахалине в 2010 г. в Александровск-Сахалинском районе острова. В 2014 г. выделен штамм Лазо MP36 из пула комаров *Aedes vexans*, собранных в районе имени Лазо (47°59' с. ш., 134°47' в. д.) Хабаровского края в период снижения весенне-летней активности иксодовых клещей и низкой заболеваемости населения этого региона клещевым энцефалитом. Филогенетический анализ полноразмерных кодирующих областей геномов штаммов ВКЭ, выделенных от комаров, показал их родство со штаммами дальневосточного и сибирского типов вируса вне зависимости от времени и места выделения штаммов, а также от переносчика или хозяина. Структура пептида слияния идентична у всех изолятов ВКЭ, выделенных от комаров, клещей, позвоночных и больных людей. Несмотря на нуклеотидные замены и мини-делеции в 3'-нетранслируемой области генома штаммов ВКЭ, пространственные конформации



Штамм ВКЭ	5'-CS-A	3'-CS-A	5'-CS-B	3'-CS-B	CS-b1	CS-b2
Лазо МР36	GGAGAACAAGAGCUG	CGGUUCUUGUUCUCC	GGGGCGGUCCC	GGGAGGCCCC	GGAAGG	CCCCGGCCA
Мальшево	GGAGAACAAGAGCUG	-	GGGGCGGUCCC	GGACAACCC	GGAAGG	UCCCCAAAUCCC
Сахалин 6-11	-	-	GGGGCGGUCCC	GGACAACCC GGGAGCGGUG	AGGAAGG	UCCCCAAGGCC
Найдорф [5]	GGAGAACAAGAGCUG	CGGUUCUUGUUCUCC	GGGGCGGUCCC	GGGAGGCCCC	GGUAAGG	CCCCUGACC

Рис. 2. Локализация и структура последовательностей циклизации у штаммов ВКЭ, выделенных от комаров и клещей.

и потенциальные последовательности циклизации были сходными у изолятов ВКЭ от клещей и комаров.

Выделение штаммов ВКЭ от комаров с сохранением их патогенности при пассировании, возможно, свидетельствует о том, что комары являются случайными или дополнительными переносчиками вируса в природных очагах. Для двух других флавивирусов — вируса Западного Нила (номера доступа в GenBank FJ159129-FJ159131, AY277251, DQ411030, DQ377178 и другие) и вируса омской геморрагической лихорадки [16] также известны изоляты как от комаров, так и от клещей, несмотря на принадлежность первого к флавивирусам, переносимым комарами, а второго — клещами. Разнообразие резервуарных хозяев и членистоногих переносчиков флавивирусов, включая ВКЭ, обусловлено возможностью фенотипических перестроек вирусных квазивидов при адаптациях и переадаптациях к эволюционно отдаленным беспозвоночным и позвоночным хозяевам [17, 18].

### Заключение

Филогенетический анализ полноразмерных кодирующих областей геномов штаммов ВКЭ, выделенных от комаров, показал их родство со штаммами дальневосточного и сибирского типов вируса вне зависимости от времени и места выделения штаммов, а также от

переносчика или хозяина. Структура пептида слияния идентична у всех изолятов ВКЭ, выделенных от комаров, клещей, позвоночных и больных людей. Потенциальные последовательности циклизации также были сходными у изолятов ВКЭ от комаров и клещей. Сходство структур геномов изолятов ВКЭ от комаров, клещей и больных людей при патогенности изолятов ВКЭ от комаров для новорожденных лабораторных мышей и их цитопатическом действии для культур клеток животных могут свидетельствовать о возможной роли комаров в качестве случайных или дополнительных переносчиков вируса.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 1—5, 10, 12, 13, 17, 18 см. REFERENCES)

- Коренберг Э.И. Клещевой энцефалит. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989: 256—64.
- Богданов И.И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение VII. Типы популяций иксодовых клещей. *Вестник Омского Педагогического Университета*. 2006; 03.00.08 — зоология. Available at: <http://www.omsk.edu/article/vestnik-omgpu-37.pdf>.

8. Гуцевич А.В., Мончадский А.С., Штакельберг А.А. *Комары. Семейство Culicidae*. Ленинград: Наука; 1970.
9. Гайдамович С.Я., ред. *Арбовирусы (методы лабораторных и полевых исследований)*. М.: Наука; 1986.
11. Ткачев С.Е. *Генетическая вариабельность вируса клещевого энцефалита в природных очагах Новосибирска и его окрестностей*: Дисс. ... канд. биол. наук. Новосибирск; 2015.
14. Львов Д.К., Альховский С.В., Шелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Гительман А.К. и др. Генетическая характеристика вируса Пвассан (POWV — Powassan virus), изолированного от клещей *Haemophysalis longicornis* в Приморском крае, и двух штаммов вируса клещевого энцефалита (Flaviviridae, Flavivirus): Алма-Арасан (AAV-Alma-Atasan virus), изолированного от клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане, и Мальшево, изолированного от комаров *Aedes vexans nipponii* в Хабаровском крае. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(5): 18—22.
15. Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Борисова Т.И., Вершинин Е.А., Татарникова С.А., Бренева Н.В. и др. Оценка эпизоотолого-эпидемической ситуации по природно-очаговым инфекциям в Александровск-Сахалинском районе Сахалинской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 11—5.
16. Харитонов Н.Н., Леонов Ю.А. *Омская геморрагическая лихорадка*. Новосибирск; 1978.
1. Baier A. Flavivirus infections and potential targets for antiviral therapy. In: Ruzek D., ed. *Flavivirus Encephalitis*. Intech, Croatia; 2011: 89—104.
2. Calzolari M., Zé-Zé L., Vázquez A., Sánchez Seco M.P., Amaro F., Dottori M. Insect-specific flaviviruses, a worldwide widespread group of viruses only detected in insects. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 40: 381—8.
3. Shi M., Lin X.D., Vasilakis N., Tian J.H., Li C.X., Chen L.J. et al. Divergent Viruses Discovered in Arthropods and Vertebrates Revise the Evolutionary History of the Flaviviridae and Related Viruses. *J. Virol.* 2015; 90(2): 659—69.
4. Seligman S.J. Constancy and diversity in the flavivirus fusion peptide. *Virology*. 2008; 5: 27.
5. Kofler R.M., Hoenninger V.M., Thurner C., Mandl C.W. Functional analysis of the tick-borne encephalitis virus cyclization elements indicates major differences between mosquito-borne and tick-borne Flaviviruses. *J. Virol.* 2006; 80(8): 4099—113.
6. Korenberg E.I. The tick-borne encephalitis. In: L'vov D.K., Klimenko S.M., Gaydamovich S.Ya., eds. *Arboviruses and Arboviral Infections [Arbovirusy i arbovirusnye infektsii]*. Moscow: Meditsina; 1989: 256—64. (in Russian)
7. Bogdanov I.I. Ixodid ticks of the Western Siberia. Report VII. Population types of ixodid ticks. *Vestnik Omskogo Pedagogicheskogo Universiteta*, 2006; 03.00.08 — zoologiya. Available at: <http://www.omsk.edu/article/vestnik-omgpu-37.pdf>. (in Russian)
8. Gutsevich A.V., Monchadskiy A.S., Shtakel'berg A.A. *Mosquitoes. Family Culicidae [Komary. Semeystvo Culicidae]*. Leningrad: Nauka; 1970. (in Russian)
9. Gaydamovich S.Ya., ed. *Arboviruses (methods of laboratory and field assays) [Arbovirusy (metody laboratornykh i polevykh issledovaniy)]*. Moscow: Nauka; 1986. (in Russian)
10. Belikov S.I., Kondratov I.G., Potapova U.V., Leonova G.N. The Relationship between the Structure of the Tick-Borne Encephalitis Virus Strains and Their Pathogenic Properties. *PLoS One*. 2014; 9(4): 1—16.
11. Tkachev S.E. *Genetic Variability of the Tick-Borne Encephalitis Virus in Natural Foci of Novosibirsk and its Surrounding Regions*: Diss. Novosibirsk; 2015. (in Russian)
12. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(12): 2725—9.
13. Pukhovskaya N.M., Belozeroва N.B., Bakhmetyeva S.V., Zdanovskaya N.I., Ivanov L.I., Morozova O.V. Isolation of the tick-borne encephalitis virus from mosquito in Khabarovsk region of the Far East of Russia. *J. Neuroinfect. Dis.* 2015. Available at: <http://dx.doi.org/10.4172/2314-7326.S2-e001>.
14. L'vov D.K., Al'khovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinina A.M., Deryabin P.G., Gitel'man A.K. et al. Genetic characterisation of Powassan virus (POWV) isolated from *Haemophysalis longicornis* ticks in Primorye and two strains of Tick-borne encephalitis virus (TBEV) (Flaviviridae, Flavivirus): Alma-Atasan virus (AAV) isolated from *Ixodes persulcatus* ticks in Kazakhstan and Malyshevo virus isolated from *Aedes vexans nipponii* mosquitoes in Khabarovsk kray. *Voprosy virusologii*. 2014; 59(5): 18—22. (in Russian)
15. Andaeв E.I., Chesnokova M.V., Borisova T.I., Verшинin E.A., Tatarnikova S.A., Breneva N.V. et al. Estimation of epizootological and epidemical situation of natural foci infections in Alexandrovsk-Sakhalinsk area of the Sakhalin region. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2014; (3): 11—5. (in Russian)
16. Kharitonova N.N., Leonov Yu.A. *Omsk Hemorrhagic Fever [Omskaya gemorragicheskaya likhораdka]*. Novosibirsk; 1978. (in Russian)
17. Domingo E. Quasispecies in virology. *J. Virol.* 2002; 76: 463—5.
18. Romanova L.Iu., Gmyl A.P., Dzhivaniyan T.I., Bakhmutov D.V., Lukashев A.N., Gmyl L.V. et al. Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation. *Virology*. 2007; 362(1): 75—84.

Поступила 14.03.16

Принята в печать 29.03.16