

Чичерина Г.С.¹, Морозова О.В.^{2,3}, Панов В.В.¹, Романенко В.Н.⁴, Бахвалов С.А.¹, Бахвалова В.Н.¹

Особенности инфекции вирусом клещевого энцефалита *Ixodes persulcatus* Shulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev в период роста численности и трансформации видовой структуры сообщества ИКСОДИД

¹ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, 630091, г. Новосибирск; ²Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; ³ФГБУН «НИИ физико-химической медицины» ФМБА России, 119435, г. Москва; ⁴ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 643050, г. Томск

С использованием методов иммуноферментного анализа на антиген, обратной транскрипции с последующей количественной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с гентипспецифичными флуоресцентными зондами в реальном времени, филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генов *E* и *NS1*, биопробы на мышах, реакции гемагглютинации, а также определения нейроинвазивности проведено сравнение инфекции вирусом клещевого энцефалита (ВКЭ) иксодовых клещей *Ixodes persulcatus* P. Schulze и *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 в зоне симпатрии их ареалов на территории Новосибирской области в период роста численности иксодовых клещей со сменой доминирующего вида. Соотношение двух видов клещей зависело не от биотопов соснового или березового леса, а от удаленности от лесопарковой зоны Новосибирского научного центра: при уменьшении антропогенной нагрузки относительная доля клеща Павловского уменьшалась. Вирусофорность (с учетом патогенного и апатогенного для лабораторных мышей ВКЭ), спектры 3 основных генетических типов ВКЭ, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность ВКЭ у клещей таежного и Павловского были сходными. Различия состояли в том, что доли патогенного для лабораторных мышей вируса и дальневосточного генетического типа ВКЭ, а также вирусные нагрузки сибирского и европейского типов ВКЭ у клеща Павловского существенно превышали таковые у таежного клеща.

Ключевые слова: антропогенный очаг клещевого энцефалита; клещ Павловского *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946; таежный клещ *Ixodes persulcatus* P. Schulze; вирус клещевого энцефалита; вирусофорность; вирусная нагрузка; генетические типы; нейровирулентность; гемагглютинирующая активность.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (5): 42–46.

Chicherina G.S.¹, Morozova O.V.², Panov V.V.¹, Romanenko V.N.³, Bakhvalov S.A.¹, Bakhvalova V.N.¹

Features of the tick-borne encephalitis virus infection of *Ixodes persulcatus* Shulze and *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 during period of growth and transformation of species structure of the ixodids community

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals, Novosibirsk, Russia; ²D.I. Ivanovsky Institute of Virology «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, Russia; ³Tomsk State University, Tomsk, Russia

ELISA for antigen detection, reverse transcription with quantitative real-time PCR with the subtype-specific fluorescent probes, phylogenetic analysis of the *E* and *NS1* gene nucleotide sequences, bioassays with suckling mice, hemagglutination and neuroinvasiveness tests were used to compare the tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection of the ixodid ticks *Ixodes persulcatus* P. Schulze and *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946 in sympatria area of their natural habitats in Novosibirsk region during growth period of their populations with the replacement of prevailing species of the monodominant type of ixodid population structure. Ratio of the two tick species did not depend on biotopes of pine or birch forest, but rather on the distance from Novosibirsk Scientific Center: the lower anthropogenic pressure, the smaller *I. pavlovskyi* proportion. The TBEV rate (including both pathogenic and apathogenic viruses for laboratory mice), spectra of the 3 main genetic types of TBEV, neurovirulence and hemagglutination activity were similar for both *I. persulcatus* and *I. pavlovskyi*. However, proportion of pathogenic for laboratory mice virus and the TBEV Far Eastern subtype, as well as viral loads of Siberian and European types for the TBEV from *I. pavlovskyi*, were significantly higher than those from *I. persulcatus*.

Key words: anthropogenic endemic region of tick-borne encephalitis; ixodid tick *Ixodes pavlovskyi* Pomerantsev 1946; taiga tick *Ixodes persulcatus* P. Schulze; tick-borne encephalitis virus (TBEV); viral infection rate; viral load; TBEV genetic types; TBEV neurovirulence; hemagglutination activity.

Our research was supported by grants №83, 135, 141 of the Integration Program of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences and by the Federal Fundamental Scientific Research Programme for 2013-2020 (VI.51.1.5).

Received 02.12.13

For correspondence: Valentina Bakhvalova, candidate of biological sciences, e-mail: bvnbtbe@yandex.ru
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(5): 42–46. (In Russ.)

Введение

В природных очагах устойчивость паразитарной системы, включающей вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), его беспозвоночных и позвоночных резервуарных хозяев, обеспечивается полигостальностью, перестройками вирусного

квазивида и разнообразием циклов трансмиссии. Наиболее эффективна безвиремийная передача вируса между клещами в процессе питания на одном прокормителе [1]. Для этого необходимо совпадение сезонных циклов клещей и их прокормителей, способных обеспечить репликацию ВКЭ в особях

иммунокомпетентных клетках кожи [1–3]. Вследствие этого наиболее эпидемически значимыми переносчиками ВКЭ считали *Ixodes persulcatus* P. Schulze и *Ixodes ricinus* L.

Среди 12 типов населения иксодовых клещей, объединенных в 3 группы: моно-, би- и полидоминантную, в Западной Сибири ранее был описан монодоминантный тип с доминированием таежного клеща в сочетании с малочисленными видами, в том числе с близкородственным реликтовым видом иксодид из группы *persulcatus* – клещом Павловского *Ixodes pavlovskiy* Pomerantsev 1946 [4]. Однако в последние годы вблизи Томска [5] и Новосибирска [6] отмечено массовое появление клеща Павловского, ареал которого включает алтайскую и дальневосточную разобщенные части [7]. Отличия клещей состоят в специализации половозрелой фазы к хозяевам: таежный клещ прокармливается в основном на крупном рогатом скоте, крупных и средних диких млекопитающих, а клещ Павловского – на птицах, реже на зайцах и ежах [7]. Температура тела у птиц (42–44°C) выше, чем у млекопитающих, что может обуславливать селекцию температуроустойчивых мутантов ВКЭ. Сравнительные исследования вирусоносительства среди разных видов иксодовых клещей в природных очагах, претерпевающих изменения видового состава иксодид, немногочисленны [8, 9].

Цель данной работы – количественные и качественные характеристики ВКЭ у иксодовых клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskiy* в западносибирском антропоургическом очаге в период трансформации видового состава населения иксодид.

Материалы и методы

Сбор клещей. Учеты численности и сбор клещей проводили с растительности на флаг в мае–июне 2011–2012 гг. на территории антропоургического очага КЭ – лесопарка Новосибирского научного центра (ННЦ), расположенного в зоне симпатрии западно-сибирской части ареала таежного клеща и алтае-саянской части ареала клеща Павловского (54°49' N, 83°05' E). Ранее здесь отмечали абсолютное доминирование таежного клеща [10]. Видовую принадлежность определяли с помощью стереоскопического микроскопа по морфологическим признакам [7]. Для детекции ВКЭ клещей гомогенизировали индивидуально в 0,1 мл физиологического раствора или по 10 экземпляров в 1 мл. Индивидуальную зараженность определяли посредством перерасчета [11].

Детекцию ВКЭ проводили в гомогенатах клещей посредством иммуноферментного анализа (ИФА) на антиген ВКЭ с использованием набора ВектоВКЭ-антиген-стрип (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), обратной транскрипции с последующей ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) [12] и биопробы на мышцах ICR [13]. Критерием патогенности изолятов служило наличие у зараженных мышей признаков заболевания, специфичность которых подтверждалась методами идентификации патогена в головном мозге заболевших мышей. При наличии белка Е и/или РНК ВКЭ в испытуемых гомогенатах клещей и отсутствии признаков заболевания у лабо-

раторных мышей исходного заражения или первого пассажи, образец считали апаатогенным для лабораторных мышей ICR.

Вирусные нагрузки в клещах оценивали с использованием двух независимых методов [14]: количественной ОТ-ПЦР-РВ с калибровочным графиком зависимости пороговых циклов (Сt) флуоресценции от количества рекомбинантной плазмидной ДНК; ИФА на антиген Е ВКЭ с калибровочным графиком зависимости оптической плотности ВКЭ от количества очищенного антигена Е [14].

Специфичность детекции ВКЭ подтверждали посредством реакции биологической нейтритализации на мышцах (РН) [15] и реакции торможения гемагглютинации (РТГА) [16] с поликлональными антителами, направленными к ВКЭ. Молекулярное типирование проводили с помощью ОТ-ПЦР-РВ [12, 14] и и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов генов Е и NS1 ВКЭ.

Определение нуклеотидных последовательностей генов Е и NS1 для изолятов РНК ВКЭ из гомогенатов клещей и мозга биопробных мышей проводили в Центре секвенирования ДНК ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) с использованием автоматического анализатора ДНК модели ABI 310 (“Applied Biosystems”, США) и набора BigDye 3.1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили при помощи программного обеспечения Mega 5.0 (<http://www.megasoftware.net/>) с использованием 4 альтернативных алгоритмов при 1000 репликаций [17].

Нейровирулентность ВКЭ в клещах определяли посредством интрацеребрального и подкожного заражения мышей ICR массой тела 8–10 г десятикратными разведениями (4 особи на 1 разведение) патогенных для мышей клещевых суспензий. Титры вируса рассчитывали в $Ig_{LD_{50}}$ [18].

Статистическое сравнение выборочных средних и выборочных долей проводили по критерию Стьюдента [19]. Средние геометрические титры (СГТ) антигенов определяли вычислением антилогарифма от среднего арифметического десятичных логарифмов обратных значений титров в соответствии с указаниями в работе [18]. Принят уровень значимости различий $p < 0,05$.

Содержание, кормление, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

Результаты и обсуждение

Распределение иксодид по биотопам. Мониторинг антропоургического очага КЭ на территории Новосибирской области в 1980–2005 гг. показал циклические вариации численности клещей в диапазоне 4,4–18,6 экземпляров на 1 флажок-километр (экз/флаго-км), а с 2006 по 2012 г. – быстрый рост численности иксодид до 52,0 экз/флаго-км. При этом коле-

Таблица 1

Численность имаго иксодид в исследуемом антропоургическом очаге

| Участок сбора клещей | Суммарная численность иксодид (экз/флаго-км±m) | | Доля клеща Павловского, % (±m) | |
|---|--|-----------|--------------------------------|-----------|
| | 2011 г. | 2012 г. | 2011 г. | 2012 г. |
| № 1 – сосновый бор, от ННЦ не более 3 км | 39,3±3,7 | 31,9±5,5 | 84,4±1,7 | 93,8±1,5* |
| № 2 – мелколиственный разреженный березовый лес с незначительной примесью осины и хорошо развитым травяным покровом, от ННЦ не более 3 км | 55,7±6,7 | 55,9±8,9 | 84,6±2,4 | 95,8±0,8* |
| № 3 – мелколиственный березово-осиновый лес, хорошо развитый кустарниковый ярус со смыканием крон, от ННЦ 5–6 км | 38,0±14,0 | 46,5±7,4 | 58,3±5,0** | 82,0±1,7* |
| № 4 – пойма реки, разреженный сосновый бор с примесью березы, осины, хорошо развитым кустарником и густым травостоем, от ННЦ 12–15 км | 52,0±10,6 | 42,8±21,7 | 12,5±4,8** | 16,7±6,1 |
| Всего | 45,0±3,4 | 43,3±4,2 | 60,5±1,7 | 80,9±1,0* |

Примечание. (экз/флаго-км±m) – численность клещей и статистическая погрешность (m) показателя; (±m) – % от общего количества иксодид, принято за 100%; m – статистическая погрешность доли (в %); * – доля клеща Павловского в 2012 г. значимо ($p < 0,001$) выше его доли в 2011 г. на том же участке; ** – доли клеща Павловского на участках № 3 и № 4 значимо ($p < 0,001$) различаются и, кроме того, отличаются от долей на участках № 1 и № 2 ($p < 0,001$).

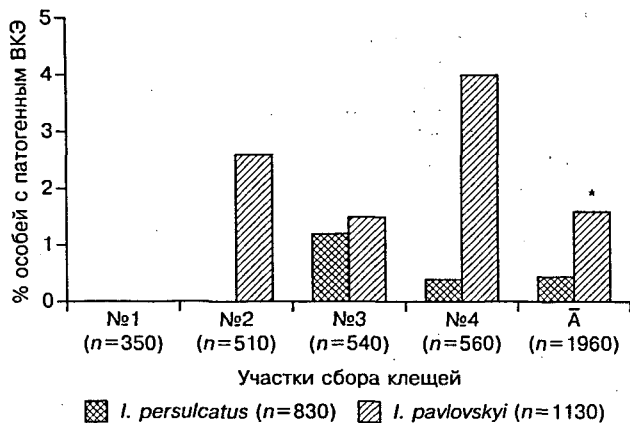


Рис. 1. Зараженность патогенным ВКЭ имаго голодных иксодовых клещей, отловленных в очаге (усредненные данные за 2011–2012 гг.).

А – усредненный % зараженности клещей на всей изученной территории; * – зараженность клеща Павловского патогенным ВКЭ достоверно ($p < 0,05$) выше зараженности таежного клеща.

В скобках приведено количество (n) исследованных клещей.

бания плотности прокормителей клещей – мелких грызунов и насекомоядных оставались в пределах периодических флуктуаций, численность птиц [20] постепенно уменьшалась вследствие антропогенной дигрессии их населения.

Сбор иксодовых клещей проводили в годы высокой численности клещей в мае–июне 2011–2012 гг. на 4 участках с разными рельефом, растительностью, удаленностью от ННЦ и, следовательно, антропогенным действием (табл. 1).

Общая численность клещей в биотопах не была связана с удаленностью от ННЦ. Определение видовых принадлежности 3190 экземпляров клещей выявило 2 вида иксодид – таежного клеща и клеща Павловского с превалированием ($p < 0,001$) последнего. В среднем доля клеща Павловского возросла от $60,5 \pm 1,3$ в 2011 г. до $80,9 \pm 1,0\%$ в 2012 г. ($p < 0,001$). При этом по мере увеличения расстояния от ННЦ снижалась доля клеща Павловского (см. табл. 1). Полученные данные свидетельствовали о продолжении экспансии клеща Павловского на территории Новосибирской области [21] в прямой зависимости от антропогенного воздействия.

Зараженность клещей ВКЭ изучали посредством ИФА на антиген Е, ОТ-ПЦР-РВ, РГА и биопробы на мышах. Сравнительный анализ зараженности клещей ВКЭ на разных участках показал неравномерность распределения вирусофорных особей обоих видов по территории. В 2011 г. частота обнаружения РНК ВКЭ в клещах варьировала по участкам от $1,5 \pm 1,0$ до $14,2 \pm 3,8\%$ у клеща Павловского и от $1,9 \pm 1,9$ до $6,7 \pm 1,4\%$ у таежного клеща. По результатам применения комплекса методов (с учетом патогенных и апатогенных для мышей изолятов), зараженность клещей Павловского и таежного составляла в среднем $4,0 \pm 0,9$ и $5,3 \pm 1,0\%$ соответ-

ственно. Вместе с тем частота обнаружения патогенного для лабораторных мышей ВКЭ у клеща Павловского ($2,1 \pm 0,7\%$) была значимо выше ($p < 0,01$), чем у таежного ($0,2 \pm 0,2\%$). Данные биопробы (рис. 1) свидетельствовали о зависимости частоты изоляции патогенного ВКЭ как от лесорастительных условий участков, так и от вида переносчика.

Количественные оценки. По данным количественной ОТ-ПЦР-РВ [14], диапазон Ct в суспензиях клеща Павловского составлял 15,3–41,4 ($3 \cdot 10^7$ – 10^9 геном-эквивалентов в реакционной смеси), у таежного клеща – 26,4–49,5 (10^4 – 10^6 геном-эквивалентов в реакционной смеси), что с учетом эффективности выделения РНК и ревертирования соответствовало более высоким вирусным нагрузкам для клеща Павловского – до 10^9 вирионов по сравнению с количеством вирионов до 10^6 у таежного клеща.

Дополнительно количественные оценки антигена Е ВКЭ в гомогенатах проводили посредством ИФА [14]. Значения оптической плотности в непатогенных образцах клещей обоих видов не превышали 0,350, что соответствовало 0,9 нг/мл. С учетом молекулярной массы гликопротеина Е 60 кДа это количество соответствовало приблизительно 10^{10} молекул белка Е или $5 \cdot 10^7$ вирионов в клещах с непатогенным ВКЭ. В патогенных образцах клеща Павловского диапазон содержания белка Е составлял до 25 нг/мл (до 10^9 вирионов в клеще), у таежного – до 3,0 нг/мл (до 10^8 вирионов). В среднем количество гликопротеина Е в патогенных пробах клеща Павловского ($6,1 \pm 1,7$ нг/мл) значимо ($p < 0,05$) превышало таковое у таежного клеща ($1,9 \pm 0,65$ нг/мл). Таким образом, количественные оценки вирусных нагрузок с использованием 2 независимых методов совпадали.

Молекулярное типирование ВКЭ. Спектр 3 основных генетических типов ВКЭ у 2 видов клещей не различался (табл. 2).

В образцах клещей при молекулярном типировании посредством филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генов Е, NS1 и ОТ-ПЦР-РВ с генотип-специфичными флуоресцентными зондами выявлены РНК ВКЭ сибирского (Sib), дальневосточного (FE) и европейского (Eur) типов. При этом отмечено почти трехкратное превышение доли изолятов РНК ВКЭ FE-типа у клеща Павловского по сравнению с таежным при близких усредненных значениях Ct. В отличие от FE-типа РНК ВКЭ Sib- и Eur-типов у разных видов детектировали примерно с равной частотой, но, судя по различиям средних значений Ct, вирусные нагрузки ВКЭ Sib- и Eur-типов были выше у клеща Павловского по сравнению с таежным. Эти факторы могли обуславливать достоверно более высокую частоту обнаружения патогенного ВКЭ у клеща Павловского по сравнению с таежным (см. рис. 1).

Анализ выявил особенности распределения генетических типов и концентраций РНК ВКЭ у клещей обоих видов в зависимости от содержания в образцах патогенного для мышей ВКЭ. Патогенные для мышей изоляты содержали РНК ВКЭ 2 типов (Sib и FE) преимущественно в виде смешанной инфекции, апатогенные – моноинфекцию 3 типов ВКЭ с преобладанием Sib-типа (рис. 2, а). Необходимо отметить отсутствие Eur-типа в патогенных образцах. Усредненные Ct Sib- и FE-типов ВКЭ в патогенных пробах обоих видов клещей значимо не различались, но в апатогенных образцах усредненные Ct Sib- и Eur-

Таблица 2

Генетический состав ВКЭ и пороговые циклы в ОТ-ПЦР-РВ в клещах среди образцов, содержащих РНК ВКЭ

| Вид клеща | Дальневосточный тип | | Сибирский тип | | Европейский тип | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$) | пороговые циклы (Ct $\pm m$) | доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$) | пороговые циклы (Ct $\pm m$) | доля изолятов, % ($\bar{A} \pm m$) | пороговые циклы (Ct $\pm m$) |
| <i>Ixodes pavlovskiyi</i> | 61,1 \pm 11,8* | 33,3 \pm 1,4 (26,5–41,4)** | 83,3 \pm 9,0 | 31,0 \pm 1,5 (15,3–39,8)**, *** | 11,1 \pm 7,6 | 24,8 \pm 3,9 (20,9–28,6)**, *** |
| <i>Ixodes persulcatus</i> | 21,1 \pm 9,6* | 33,9 \pm 2,9 (26,4–39,4)** | 78,9 \pm 9,6 | 40,9 \pm 2,0 (26,9–49,5)**, *** | 15,8 \pm 8,6 | 44,2 \pm 1,9 (42,3–46,1)**, *** |

Примечание. \bar{A} – % изолятов РНК ВКЭ; m – статистическая погрешность (в %) [19]; Ct – усредненная величина пороговых циклов ОТ-ПЦР; m – статистическая погрешность величины цикла; * – % изолятов РНК ВКЭ дальневосточного типа от клеща Павловского выше, чем от таежного ($p < 0,05$); ** – диапазон варьирования пороговых циклов; *** – усредненные величины пороговых циклов ОТ-ПЦР для изолятов РНК ВКЭ сибирского и европейского типов значимо ($p < 0,001$) ниже у клеща Павловского, чем у таежного.

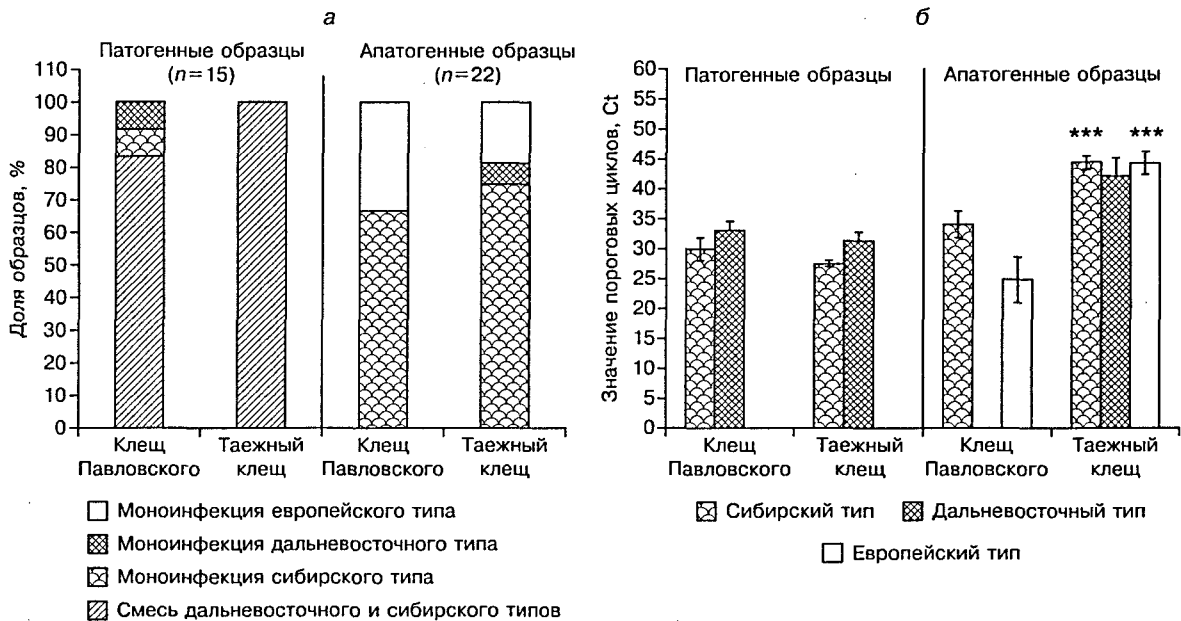


Рис. 2. Распределение генетических типов (а) и пороговые циклы (б) ВКЭ у разных видов клещей среди образцов, содержащих РНК ВКЭ, в зависимости от патогенности.

Процент рассчитывали относительно патогенных или апатогенных РНК ВКЭ-содержащих образцов каждого вида, принимаемых за 100%; *** – ($p < 0,001$) усредненные пороговые циклы (Ct) Sib- и Eur-типов ВКЭ в апатогенных образцах таежного клеща значительно выше по сравнению с Ct ВКЭ тех же типов в апатогенных пробах клеща Павловского.

типов ВКЭ были значимо ($p < 0,001$; $p < 0,05$) меньше у клеща Павловского, чем у таежного (рис. 2, б). Следовательно, концентрации РНК ВКЭ Sib- и Eur-типов в апатогенных пробах клеща Павловского значительно превышали таковые у таежного клеща.

Сравнительный анализ структуры гена E штамма 2730 ВКЭ (номер доступа в GenBank JN993573), изолированного от клеща Павловского, показал соответствие подтипу Заусаев сибирского типа ВКЭ (уровень гомологии 97 – 99%), доминирующему в эндемичных областях России [14, 22, 23].

Нейровирулентность ВКЭ. При титровании на лабораторных мышках патогенного ВКЭ непосредственно из вирусоформных суспензий клещей Павловского и таежного значимых различий нейровирулентности не выявлено: усредненный внутримозговой титр ВКЭ составил $4,23 \pm 0,33$ и $3,27 \pm 0,56$ Ig ЛД₅₀, подкожный – $2,5 \pm 0,15$ и $1,3 \pm 0,73$ Ig ЛД₅₀, индексы инвазивности – $1,86 \pm 0,31$ и $1,94 \pm 0,22$ соответственно.

Гемагглютинирующие свойства ВКЭ в суспензиях клещей обоих видов не были выявлены, несмотря на наличие антигена E в ИФА, что могло быть обусловлено разной чувствительностью методов [12]. После инокуляции клещевых суспензий мышам в мозге заболевших КЭ особой титры гемагглютинирующего вируса варьировали в диапазоне от 1:2 до 1:1280 при титрах гликопротеина E в ИФА от 1:100 до 1:6400. СГТ гемагглютинина в мозге больных мышей ICR после исходного заражения суспензиями клещей Павловского составляла 1:118,9 ($2,08 \pm 0,28$ Ig), что значимо не превышало СГТ гемагглютинирующего антигена у мышей после заражения суспензиями таежного клеща – 1:23,4 ($1,37 \pm 0,8$ Ig), но тем не менее свидетельствовало о тенденции повышенной гемагглютинирующей активности изолятов ВКЭ от клеща Павловского по сравнению с изолятами от таежного клеща. Зависимости между количеством гликопротеина E ВКЭ (ИФА) в суспензиях клещей и величинами титров гемагглютинирующего антигена (РГА) в мозге мышей, которым вводили эти суспензии, не отмечено.

В западносибирском антропогенном очаге, расположенном в зоне симпатрии ареалов клещей Павловского и таежного, в период роста численности имаго иксодид показана смена доминирующего вида *I. persulcatus* видом *I. pavlovskyi*. Процесс массового заселения территории очага клещом Павловского не связан с ростом численности мелких насекомоядных, грызунов или птиц, а обусловлен вероятнее всего антропогенной транс-

формацией лесорастительных условий до неблагоприятных для таежного клеща, но пригодных для обитания менее чувствительного к гигротермическим перепадам клеща Павловского.

Сравнительное изучение зараженности *I. pavlovskyi* и *I. persulcatus* ВКЭ, количественных и качественных характеристик вируса в период трансформации видового состава населения иксодид показало, что общая вирусоформность клещей, спектр основных генетических типов ВКЭ, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность вируса значимо не отличались между двумя видами. Вместе с тем относительное содержание клещей, инфицированных патогенным для лабораторных мышей вирусом и дальневосточным типом ВКЭ, количества вирионов сибирского и европейского типов были больше у клеща Павловского по сравнению с таежным, что, возможно, отражает циркуляцию ВКЭ у птиц – прокормителей имаго клеща Павловского и приводит к повышенным частотам патогенных изолятов ВКЭ от этого вида клещей.

Выводы

1. На территории Новосибирской области в 2011 – 2012 гг. в период роста численности иксодовых клещей до 52 экз/флажок-км зарегистрирована смена доминирующего вида *I. persulcatus* видом *I. pavlovskyi* (до 96% вблизи ННЦ).

2. Вирусоформность, детекция 3 основных типов ВКЭ, гемагглютинирующая активность и нейронинвазивность были сходными для изолятов вируса от обоих видов иксодовых клещей.

3. Доля клещей, содержащих патогенный для лабораторных мышей вирус и ВКЭ дальневосточного типа, а также количества вирионов сибирского и европейского типов были больше у клеща Павловского по сравнению с таежным.

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов №83, 135, 141 Интеграционных программ Сибирского отделения Российской академии наук и Федеральных программ фундаментальных научных исследований 2013-2020 (VI.51.1.5).

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–3, 6, 13, 16, 17 см. REFERENCES)

- Богданов И.И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение VII. Типы населения иксодовых клещей. Вестник Омского государственного педагогического университета. *Естественные науки и экология*. 2006. Available at: www.omsk.edu

5. Романенко В.Н. Мониторинг видового состава и численности иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) в антропогенных биотопах. *Вестник Томского государственного университета*. 2009; 324: 376–9.
7. Филиппова Н.А., ред. *Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение*. Ленинград: Наука; 1985.
8. Иванова Н.В. Роль мелких млекопитающих в очагах природных инфекций на антропогенно трансформированной территории юго-востока Западной Сибири. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Томск; 2009.
9. Романенко В.Н., Кондратьева Л.М. Зараженность иксодовых клещей, снятых с людей, вирусом клещевого энцефалита на территории г. Томска и его окрестностей. *Паразитология*. 2011; 45 (1): 3–10.
10. Добровровский А.К., Бакхвалова В.Н., Харитоновна Н.Н., Сапегина В.Ф. Динамика параметров паразитарной системы клещевого энцефалита в условиях северной лесостепи Приобья. *Сибирский экологический журнал*. 1994; 1 (4): 369–75.
11. Беклемисhev В.Н. К изучению зараженности клещей переносчиков энцефалита методом биопробы. *Вопросы вирусологии*. 1962; 2: 240–2.
12. Морозова О.В., Бакхвалова В.Н., Панов В.В. Сравнение методов детекции вируса клещевого энцефалита. В кн.: *Фундаментальные науки – медицине. Сборник трудов научной конференции*. Новосибирск: АРТА; 2008: 171–7.
14. Морозова О.В., Гришечкин А.Е., Бакхвалова В.Н., Исаева Е.И., Подчерняева Р.Я. Динамика репродукции вируса клещевого энцефалита в культурах клеток. *Вопросы вирусологии*. 2012; 2: 40–3.
15. Дерябин П.Г., Лебедева Г.А., Логинова Н.В. Реакция нейтрализации тогавирусов на мышах и культурах клеток. В кн.: *Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы (методы лабораторных и полевых исследований)*. М.: Наука; 1986: 120–6.
18. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Ленинград: Медгиз; 1962.
19. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1980.
20. Цыбулин С.Н., Жимулев И.Ф., Панов В.В., Вартапетов Л.Г., Жуков В.С., Богомолова И.Н. и др. Животный мир. Позвоночные. (Динамика численности и пространственная неоднородность сообществ). В кн.: *Жимулев И.Ф., ред. Динамика экосистем Новосибирского Академгородка*. Новосибирск: Издательство СО РАН; 2013: 56–80.
21. Чичерина Г.С., Романенко В.Н., Панов В.В., Морозова О.В., Бакхвалова В.Н. Антропогенная трансформация сообщества иксодовых клещей в западносибирском природном очаге клещевого энцефалита. В кн.: *«Научные чтения памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка. Антропогенная трансформация природной среды», 2. Пермь, 6–9.12.2011*. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет; 2011: 135–41.
22. Карань Л.С., Маленко Г.В., Боцкова Н. Г., Левина Л.С., Колясникова Н.М., Гамова Е.Г. и др. Применение молекулярно-генетических методов для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита. *Бюллетень Сибирского отделения РАН*. 2007; 4: 34–40.
23. Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Левина Л.С., Маленко Г.В., Гамова Е.Г. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. *Вопросы вирусологии*. 2007; 5: 16–21.
- R@uz@ek, ed. *Flavivirus encephalitis*. ISBN: 978-953-307-669-0, "InTech". 2011: 213–234. Available at: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/tick-borne-encephalitis-virus-quasispecies-rearrangements-in-ticks-and-mammals>
7. Filippova N.A., ed. *Taiga Tick Ixodes Persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology, Systematics, Ecology, Medical Importance*. [Таежный клещ Ixodes persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение]. Leningrad: Nauka; 1985. (in Russian)
8. Ivanova N.V. The role of Small Mammals in the Natural Foci of Infections in Anthropogenically Transformed Areas of South-East of Western Siberia: Diss. Tomsk; 2009. (in Russian)
9. Romanenko V.N., Kondrat'eva L.M. Infection of ixodid ticks after infestation on humans with the of tick-borne encephalitis virus in Tomsk and its suburbs. *Parazitologiya*. 2011; 45 (1): 3–10. (in Russian)
10. Dobrovorskij A.K., Bakhvalova V.N., Kharitonova N.N., Sapagina V.F. Dynamics of tick-borne encephalitis virus parasitic system under conditions of Northern forest steppe of Priobye. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*. 1994; 1 (4): 369–75. (in Russian)
11. Beklemishev V.N. Study of ticks as vectors of tick-borne encephalitis by bioassay. *Ioprosy virusologii*. 1962; 2: 240–2. (in Russian)
12. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Panov V.V. Comparison of tick-borne encephalitis virus detection methods. In: *Fundamental Sciences to Medicine. Proceedings of the Scientific Conference [Fundamental'nye nauki – meditsine. Sbornik trudov nauchnoy konferentsii]*. Novosibirsk: ARTA; 2008: 171–7. (in Russian)
13. Bakhvalova V.N., Dobrovorskij A.K., Panov V.V., Matveeva V.A., Tkachev S.E., Morozova O.V. Natural tick-borne encephalitis virus infection among wild small mammals in the southeastern part of western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2006; 6 (1): 32–41.
14. Morozova O.V., Grishchkin A.E., Bakhvalova V.N., Isaeva E.I., Podchernyayeva R.Ya. Changes in the reproduction of tick-borne encephalitis virus in cell cultures. *Ioprosy virusologii*. 2012; 2: 40–3. (in Russian)
15. Deryabin P.G., Lebedeva G.A., Loginova N.V. Neutralization test for togaviruses in mice and tissue cultures. In: *Gaydamovich S.Ya., ed. Arboviruses (methods of laboratory and field research)*. [Arbovirusy (metody laboratornykh i polevykh issledovaniy)]. Moscow: Nauka; 1986: 120–6. (in Russian)
16. Clarke D.H., Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1958; 7 (5): 561–73.
17. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol*. 2011; 28: 2731–9.
18. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statistical Methods in Microbiological Studies. [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]. Leningrad: Medgiz; 1962. (in Russian)
19. Lakin G.F. *Biometry*. [Biometriya]. Moscow: Vysshaya shkola; 1980. (in Russian)
20. Tsybulin S.N., Zhimulev I.F., Panov V.V., Vartapetov L.G., Zhukov V.S., Bogomolova I.N. et al. Animal world. Vertebrates. (Population dynamics and spatial heterogeneity). In: *Zhimulev I.F., ed. Ecosystem Dynamics of Novosibirsk Akademgorodok*. [Динамика экосистем Новосибирского Академгородка]. Novosibirsk: Izdatel'stvo SO RAN; 2013: 56–80. (in Russian)
21. Chicherina G.S., Romanenko V.N., Panov V.V., Morozova O.V., Bakhvalova V.N. Anthropogenic transformation of tick population in West Siberian natural focus of the tick-borne encephalitis. In: *"Scientific Memory Read NF Reimers and FR Shitlmark. Anthropogenic Transformation of the Natural Environment"*. Perm', 6–9.12.2011. [«Nauchnye chteniya pamyati N.F. Reymersa i F.R. Shitl'marka. Antropogennaya transformatsiya prirodnoy sredy», g. Perm', 6–9.12.2011]. Perm': Permskiy gosudarstvennyy natsional'nyy issledovatel'skiy universitet; 2011: 135–41. (in Russian)
22. Karan' L.S., Malenko G.V., Bochkova N.G., Levina L.S., Kolyasnikova N.M., Gamova E.G. et al. The use of molecular genetic methods to study structures of the tick-borne encephalitis virus strains. *Byulleten 'Sibirskogo otdeleniya RAMN*. 2007; 4: 34–40. (in Russian)
23. Pogodina V.V., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Levina L.S., Malenko G.V., Gamova E.G. et al. Evolution of tick-borne encephalitis and a problem of evolution of its causative agent. *Voprosy virusologii*. 2007; 5: 16–21. (in Russian)

REFERENCES