

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 578.833.28:576.895.42|083

Чичерина Г.С.<sup>1</sup>, Морозова О.В.<sup>2</sup>, Панов В.В.<sup>1</sup>, Романенко В.Н.<sup>3</sup>, Бахвалов С.А.<sup>1</sup>, Бахвалова В.Н.<sup>1</sup>**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗАРАЖЕННОСТИ ГОЛОДНЫХ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ *IXODES PAVLOVSKY POMERANTSEV* 1946 И *IXODES PERSULCATUS SCHULZE* ВИРУСОМ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ЗОНЕ СИМПАТРИИ ИХ АРЕАЛОВ**<sup>1</sup> ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН, 630091, Новосибирск;<sup>2</sup> ФГБУ НИИ вирусологии им. И. Ивановского Минздрава РФ, 123098, Москва;<sup>3</sup> ФГБОУ высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 643050, Томск

С использованием методов иммуноферментного анализа на антиген, обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР с генотипспецифичными 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 pavlovskiy Pomerantsev* 1946 в зоне симпатрии их ареалов на территории Новосибирской области в период роста численности иксодовых клещей со сменой доминирующего вида при монодоминантном типе населения иксодид. 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 апазогенного для лабораторных мышей ВКЭ), спектры трех основных генетических типов ВКЭ, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность ВКЭ у клещей таежного и Павловского были сходными. Отличия 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 pavlovskiy Pomerantsev* 1946; таежный клещ *Ixodes persulcatus* P. Schulze; вирус клещевого энцефалита; вирусофорность; вирусная нагрузка; генетические типы ВКЭ; нейровирулентность ВКЭ; гемагглютинирующая активность.

**Для цитирования:** Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015, 20 (1): 20–26.

Chicherina G. S.<sup>1</sup>, Morozova O. V.<sup>2</sup>, Panov V. V.<sup>1</sup>, Romanenko V. N.<sup>3</sup>, Bakhvalov S. A.<sup>1</sup>, Bakhvalova V. N.<sup>1</sup>**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS (TBEV) INFECTION OF UNFED ADULT IXODID TICKS *IXODES PAVLOVSKY POMERANTSEV* 1946 AND *IXODES PERSULCATUS SCHULZE* IN THE AREA OF SYMPATRIA OF THEIR NATURAL HABITATS**<sup>1</sup> Institute of Systematics and Ecology of Animals of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 11, Frunze Str., Novosibirsk, Russian Federation, 630091<sup>2</sup> D.I. Ivanovsky Institute of Virology, 16, Gamalei Str., Russian Federation, Moscow, 123098<sup>3</sup> National Research Tomsk State University, 36, Prospekt Lenina, Tomsk, Russian Federation, 634050

With the use of the ELISA method to detect an antigen, reverse transcription with quantitative real-time PCR with subtype-specific fluorescent probes, phylogenetic analysis of E and NS1 gene nucleotide sequences, bioassays with suckling mice, hemagglutination and neuroinvasiveness tests there was made a comparison of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection of ixodid ticks *Ixodes persulcatus* P. Schulze and *Ixodes pavlovskiy Pomerantsev* 1946 in the area of sympatria of their natural habitats in the Novosibirsk region during growth period of their populations with the replacement of prevailing species of monodominant type of the ixodid population structure. The ratio of 2 tick species didn't depend on biotopes of pine or birch forest but rather on the distance from the Novosibirsk Scientific Center: the lower anthropogenic pressure the smaller *I. pavlovskiy* proportion. The TBEV rate (including both pathogenic and apathogenic for laboratory mice virus), spectra of the TBEV 3 main genetic types, neurovirulence and hemagglutination activity were similar for both *I. persulcatus* and *I. pavlovskiy*. However, the 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. pavlovskiy* were significantly higher than those from *I. persulcatus*.

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

**Citation:** Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015; 20(1): 20–26. (In Russ.)

В природных очагах устойчивость паразитарной системы, включающей вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), его беспозвоночных и позвоночных резерву-

арных хозяев, обеспечивается полигостальностью, перестройками вирусного квазивида и разнообразием циклов трансмиссии. Наиболее эффективным способом является безвиремийная передача вируса между клещами в процессе питания на одном прокормителе [1]. Для этого необходимо совпадение сезонных циклов клещей и их прокормителей, спо-

**Для корреспонденции:** Бахвалова Валентина Николаевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. патологии насекомых, e-mail: bvnitbe@yandex.ru

собных обеспечить репликацию ВКЭ в особых иммунокомпетентных клетках кожи [1–3]. Вследствие этого наиболее эпидемически значимыми переносчиками ВКЭ считают *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 pavlovskyi* Pomerantsev 1946 [4]. Однако в последние годы вблизи Томска [5] и Новосибирска [6] отмечено массовое появление (вплоть до абсолютного доминирования) клеща Павловского, ареал которого состоит из Алтайской и Дальневосточной разобщенных частей [7]. Различия клещей включают специализацию 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. Высокое обилие клеща Павловского, отличающегося от таежного повышенной засухоустойчивостью и способного успешно существовать в неблагоприятных для таежного клеща городских и пригородных биотопах, может не только повышать устойчивость природных очагов клещевого энцефалит (КЭ), но и стать причиной изменений свойств природных популяций ВКЭ вследствие адаптации вируса к другому виду клещей. Сравнительные исследования вирусносительства 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. pavlovskyi* в западно-сибирском антропоургическом очаге в период трансформации видового состава населения иксодид.

#### Материалы и методы

Сбор клещей. Учет численности и сбор клещей проводили с растительности на флаг в мае–июне 2011–1102 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 пулы клещей по 10 экземпляров гомогенизировали в 1 мл физиологического раство-

ра. 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 мышах [13].

Вирусные нагрузки в клещах оценивали с использованием двух независимых методов [14]: 1) количественной ОТ-ПЦР-РВ с калибровочным графиком зависимости пороговых циклов (Ct) флуоресценции от количеств рекомбинантной плазмидной ДНК; 2) ИФА на антиген Е ВКЭ с калибровочным графиком зависимости оптической плотности ВКЭ количества антигена.

Идентификацию изолятов ВКЭ осуществляли посредством молекулярного типирования в ОТ-ПЦР-РВ с генотипспецифичными флуоресцентными зондами [12] и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов генов Е и NS1 ВКЭ, реакции биологической нейтрализации на мышах [15], реакции гемагглютинации с реакцией торможения гемагглютинации [16].

Определение нуклеотидных последовательностей генов Е и NS1 для изолятов РНК ВКЭ из гомогенатов клещей и мозга биопробных мышей проводили в Центре секвенирования ДНК ФГБУН ИХБФМ 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 четырех альтернативных алгоритмов при 1000 репликаций [17].

Нейровирулентность ВКЭ в клещах определяли заражением в мозг и под кожу мышей ICR массой 8–10 г десятикратными разведениями (4 особи на одно разведение) патогенных для мышей клещевых суспензий. Титры вируса рассчитывали в lg ЛД<sub>50</sub> [18].

Статистическое сравнение выборочных средних и выборочных долей проводили по критерию Стьюдента [19]. Определение средних геометрических титров (СГТ) антигенов проводили вычислением антилогарифма от среднего арифметического десятичных логарифмов обратных значений титров в соответствии с указаниями [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 Минздрава СССР от 12 августа 1977 г. № 755).

#### Результаты и обсуждение

Распределение иксодид по биотопам. Мониторинг антропоургического очага КЭ на территории

Таблица 1

Численность имаго иксодид в исследуемом антропогенном очаге

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

Новосибирской области в 1980–2005 гг. показал циклические вариации численности клещей в диапазоне 4,4–18,6 экз/флаго-км (экз/флаго-км), а с 2006 по 2012 г. – быстрый рост численности иксодид до 52,0 экз/флаго-км. При этом колебания плотности прокормителей клещей – мелких грызунов и насекомых 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 четырех 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 видовой принадлежности 3190 экз. клещей выявило 2 вида иксодид – таежный клещ и клещ Павловского с превалированием (p < 0,001) последнего. В среднем доля клеща Павловского возросла от 60,5 ± 1,3% в 2011 г. до 80,9 ± 1,0% в 2012 г. (p < 0,001). При этом по мере увеличения расстояния от ННЦ снижается доля клеща Павловского (см. табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о продолжении экспансии клеща Павловского на территории Новосибирской области [21] в прямой зависимости от антропогенного воздействия.

Зараженность клещей ВКЭ изучали посредством ИФА на антиген E, 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. частоты обнаружений РНК ВКЭ в клещах варьировали по участкам от 1,5 ± 1,0 до 14,2 ± 3,8% у клеща Павловского и от 1,9 ± 1,9 до 6,7 ± 1,4% – у таежного клеща. По данным комплекса методов (с учетом патогенных и апатогенных для мышей изолятов) зараженность клещей Павловского и таежного составляла в среднем 4,0 ± 0,9 и 5,3 ± 1,0%, соответственно. Вместе с тем частота обнаружений патогенного для лаборатор-

ных мышей ВКЭ у клеща Павловского (2,1 ± 0,7%) была значимо выше (p < 0,01), чем у таежного (0,2 ± 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 · 10<sup>7</sup>–10<sup>0</sup> геном-эквивалентов в реакционной смеси), у таежного клеща – 26,4–49,5 · 10<sup>4</sup>–10<sup>0</sup> геном-эквивалентов в реакционной смеси), что с учетом эффективности выделения РНК и ревертирования соответствовало более высоким вирусным нагрузкам для клеща Павловского – до 10<sup>9</sup> вирионов по сравнению с количеством вирионов до 10<sup>6</sup> у таежного клеща.

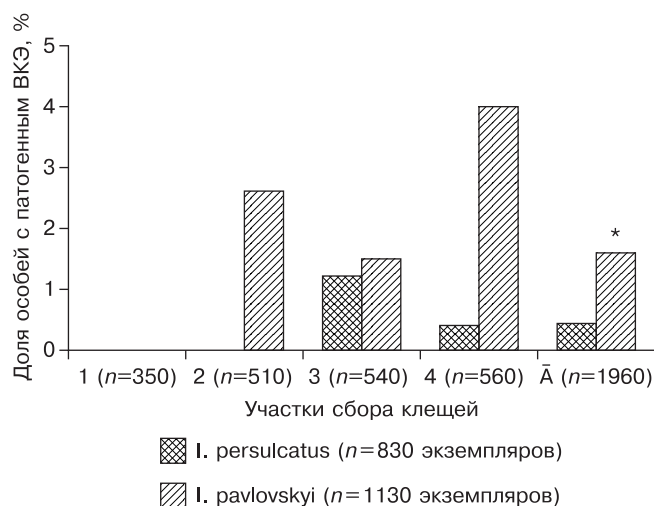


Рис. 1. Зараженность патогенным ВКЭ имаго голодных иксодовых клещей, отловленных в очаге (усредненные данные за 2011–2012 гг.).

А̄ – усредненный процент 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.

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 pavlovskiy</i>	61,1 ± 11,8*	33,3 ± 1,4 (26,5–41,4)	83,3 ± 9,0	31,0 ± 1,5 (15,3–39,8)**	11,1 ± 7,6	24,8 ± 3,9 (20,9–28,6)**
<i>Ixodes persulcatus</i>	21,1 ± 9,6*	33,9 ± 2,9 (26,4–39,4)	78,9 ± 9,6	40,9 ± 2,0 (26,9–49,5)**	15,8 ± 8,6	44,2 ± 1,9 (42,3–46,1)**

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

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 кД 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 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 двух независимых методов, совпадали.

Молекулярное типирование ВКЭ. Спектр трех основных генетических типов ВКЭ у двух 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 генотипспецифичными 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 детек-

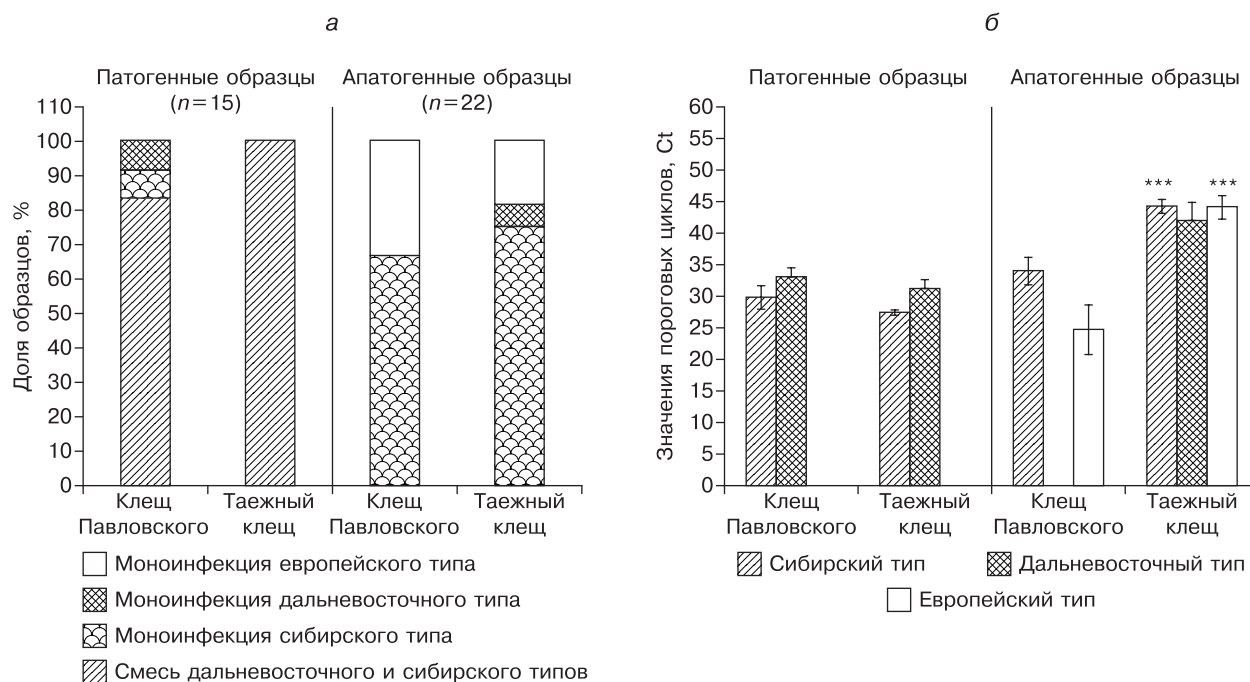


Рис. 2. Распределение генетических типов (а) и пороговые циклы (б) ВКЭ у разных видов клещей среди образцов, содержащих РНК ВКЭ, в зависимости от патогенности.

% 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 значимо выше по сравнению с  $Ct$  ВКЭ тех же типов в апатогенных пробах клеща Павловского (б).



тировали 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 двух типов (Sib и FE) преимущественно в виде смешанной инфекции, апатогенные – моноинфекцию трех 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 значимых различий не имели, но в апатогенных образцах усредненные Ct Sib- и Eur-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 значимо 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 вирусифорных суспензий клещей Павловского и таежного значимых отличий нейровирулентности не выявлено: усредненный внутримозговой титр ВКЭ составил  $4,23 \pm 0,33$  и  $3,27 \pm 0,56$  lg LD<sub>50</sub>, подкожный –  $2,5 \pm 0,15$  и  $1,31 \pm 0,73$  lg LD<sub>50</sub>, 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 различной 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 ( $2,08 \pm 0,28$  lg), что значимо не превышает СГТ гемагглютинирующего антигена у мышей после заражения суспензиями таежного клеща – 1:23,4 ( $1,37 \pm 0,8$  lg), но тем не менее свидетельствует 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 западно-сибирском антропоургическом очаге, расположенном в зоне симпатрии ареалов клеща Павловского и таежного, в период роста численности имаго иксодид показана смена доминирующего вида от *I. persulcatus* к *I. pavlovskyi*, более устойчивому к антропогенному преобразованию среды вследствие способности переносить более высокие температуры при меньшем уровне увлажненности [7]. Процесс массового заселения территории исследуемого очага клещом Павловского не был связан с ростом численности мелких насекомоядных, грызунов или птиц, а обусловлен, вероятней всего, антропогенной трансформацией лесорастительных условий до пессимальных для таежного клеща, но достаточно благоприятных для обитания менее чувствительного к гидротермическим перепадам клеща Павловского. Из обширной вирусологической литературы и собственных данных [24] известно, что в местах обитания с оптимальными условиями для клещей их зараженность ВКЭ носит устойчивый характер и чаще удается изолировать патогенный для лабораторных мышей вирус. Вероятно, это обусловлено более успешным развитием ВКЭ в организме неистощенных клещей.

Проведенное нами сравнительное изучение зараженности *I. pavlovskyi* и *I. persulcatus* ВКЭ количественных и качественных характеристик вируса в период трансформации видового состава населения иксодид, показало, что общая вирусифорность клещей, спектр основных генетических вариантов, нейровирулентность и гемагглютинирующая активность квазивида ВКЭ не имели значимых различий у двух видов. Вместе с тем доли клещей с патогенным для лабораторных мышей вирусом и дальневосточным типом ВКЭ, количества вирионов сибирского и европейского типов были значительно больше у клеща Павловского по сравнению с таежным, что, возможно, отражает и различный уровень оптимума условий для видов, и циркуляцию ВКЭ у прокормителей имаго клеща Павловского – птиц и, кроме того, может приводить к росту эпидемической опасности антропоургических очагов КЭ.

## Выводы

1. На территории Новосибирской области в 2011–2012 гг. в период роста численности иксодовых клещей до 52 экз/флаго-км зарегистрирована смена доминирующего вида от *I. persulcatus* к *I. pavlovskyi* (до 96% вблизи Новосибирского научного центра).

2. Вирусифорность, детекция трех основных типов ВКЭ, гемагглютинирующая активность и нейроинвазивность были сходными для изолятов вируса от обоих видов иксодовых клещей.

3. Доли патогенного для лабораторных мышей вируса и дальневосточного типа ВКЭ, количества вирионов сибирского и европейского типов были больше у клеща Павловского по сравнению с таежным клещом.

*Работа получала финансовую поддержку Президиума СО РАН (Междисциплинарные интеграционные проекты фундаментальных исследований № 83 и № 135).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Labuda M., Randolph S.E. Survival strategy of tick-borne encephalitis virus: cellular basis and environmental determinants. *Zbl. Bakteriol. Dec.* 1999; 289 (5–7): 513–24.
2. Korenberg E.I. Seasonal population dynamics of ixodes ticks and tick-borne encephalitis virus. *Exp. Appl. Acarol.* 2000; 24 (9): 665–81.
3. Nuttall P.A., Labuda M. Dynamics of infection in tick vectors and at the tick-host interface. *Adv. Virus Res.* 2003; 60: 233–72.
4. 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](http://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.
6. Bakhvalova V.N., Panov V.V., Morozova O.V. Tick-borne encephalitis virus quasispecies rearrangements in ticks and mammals. In: Ruzek D., ed. *Flavivirus Encephalitis*. ISBN: 978-953-307-669-0, «InTech». 2011: 213–34. Available from: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/tick-borne-encephalitis-virus-quasispecies-rearrangements-in-ticks-and-mammals>
7. Филиппова Н.А., ред. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука; 1985.
8. Иванова Н.В. Роль мелких млекопитающих в очагах природных инфекций на антропогенно трансформированной территории юго-востока Западной Сибири. 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. Добротворский А.К., Бахвалова 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. Беклемишев В.Н. К изучению зараженности клещей переносчиков энцефалита методом биопробы. *Вопросы вирусологии.* 1962; 2: 240–2.
12. Морозова О.В., Бахвалова 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.
13. Bakhvalova V.N., Dobrotvorsky 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. Морозова О.В., Гришечкин А.Е., Бахвалова 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.
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. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: 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., Николаева О.Н. 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., Бахвалова 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», г. Пермь, 6–9.12.2011. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет. 2011: 135–41.
  22. Карань Л.С., Маленко Г.В., Бочкова Н.Г., Левина Л.С., Колясникова Н.М., Гамова Е.Г. и др. Применение молекулярно-генетических методик 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.
  24. Бахвалова В.Н. Эпизоотическое состояние природного очага клещевого энцефалита и особенности вирусной популяции в лесостепном Приобье (Западная Сибирь): Дисс. ... канд. биол. наук. Новосибирск; 1994.

#### REFERENCES

1. Labuda M., Randolph S.E. Survival strategy of tick-borne encephalitis virus: cellular basis and environmental determinants. *Zbl. Bakteriol. Dec.* 1999; 289 (5–7): 513–24.
2. Korenberg E.I. Seasonal population dynamics of ixodes ticks and tick-borne encephalitis virus. *Exp. Appl. Acarol.* 2000; 24 (9): 665–81.
3. Nuttall P.A., Labuda M. Dynamics of infection in tick vectors and at the tick-host interface. *Adv. Virus Res.* 2003; 60: 233–72.
4. Bogdanov I.I. Ixodid ticks in Western Siberia. Report VII. Types of ixodid tick populations. *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Estestvennye nauki i ekologiya.* 2006. Available at: [www.omsk.edu](http://www.omsk.edu). (in Russian)
5. Romanenko V.N. Monitoring of tick species and populations of ixodid ticks (Parasitiformes, Ixodidae) in anthropogenic biotopes. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2009; 324: 376–9. (in Russian)
6. Bakhvalova V.N., Panov V.V., Morozova O.V. Tick-borne encephalitis virus quasispecies rearrangements in ticks and mammals. In: Ruzek D., ed. *Flavivirus Encephalitis*. ISBN: 978-953-307-669-0, «InTech». 2011: 213–34. Available from: <http://www.intechopen.com/articles/show/title/tick-borne-encephalitis-virus-quasispecies-rearrangements-in-ticks-and-mammals>
7. Fillipova N.A., ed. *Taiga Tick Ixodes Persulcatus Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology, Systematics, Ecology, Medical Importance.* [Taiznyi kleshch Ixodes persulcatus Schulze (Acarina Ixodidae): morfologiya, sistematika, ekologiya, meditsinskoe znachenie]. 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. Dobrotvorskii 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. *Voprosy 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. [Fundamentalnye nauki – medicine: Sbornik Trudov nauchnoi konferentsii]. Novosibirsk: ARTA; 2008: 171–7. (in Russian)
13. Bakhvalova V.N., Dobrotvorskii 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., Grishechkin A.E., Bakhvalova V.N., Isayeva E.I., Podchernyaeva R.Ya. Changes in the reproduction of tick-borne encephalitis virus in cell cultures. *Voprosy 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. Evolut.* 2011; 28: 2731–9.
18. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statistical Methods in Microbiological Studies. [Arbovirusy (metody laboratornykh i polevykh issledovaniy)]. Leningrad: Medgiz; 1962. (in Russian)
19. Lakyn 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., Nikolaeva O.N. Animal world. Vertebrates. (Population dynamics and spatial heterogeneity). In: Zhimulev I.F., ed. Ecosystem Dynamics of Novosibirsk Akademgorodok. [Dinamika ekosistem Novosibirskogo Akademgorodka]. Novosibirsk: 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 N.F. Reimers and F.R. Shtilmark. «Anthropogenic Transformation of the Natural Environment». Perm', 6–9.12.2011. []. Perm': Permskiy gosudarstvennyy natsional'nyy issledovatel'skiy universitet. 2011: 135–141. (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)
24. Bakhvalova V.N. Epizootic Condition of the Natural Focus of Tick-borne Encephalitis and Features of Viral Populations in Ob' forest-steppe (Western Siberia): Diss. Novosibirsk; 1994. (in Russian)

Поступила 19.05.14

Received 19.05.14

#### Сведения об авторах:

**Чичерина Галина Сергеевна**, мл. науч. сотр., лаб. патологии насекомых, e-mail: chicherinagalina@bk.ru; **Морозова Ольга Владимировна**, доктор биол. наук, e-mail: omorozova2010@gmail.com; **Панов Виктор Васильевич**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. экологии сообществ позвоночных животных; **Романенко Владимир Никифорович**, доктор биол. наук, проф., зав. каф. зоологии беспозвоночных, e-mail: vnremont@mail.ru; **Бахвалов Станислав Андреевич**, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патологии насекомых, e-mail: bahvalov60@list.ru