

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 578.833.28:578.5].083.2

Вакалова Е.В.<sup>1</sup>, Волынкина А.С.<sup>2</sup>, Котенев Е.С.<sup>2</sup>, Куликова Л.Н.<sup>3</sup>, Викторова Н.В.<sup>1</sup>

## ДЕТЕКЦИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РНК-ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КЛЕЩЕЙ *HYALOMMA MARGINATUM* В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ (2016 г.)

<sup>1</sup>ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» Роспотребнадзора, 414000, Астраханская область, г. Астрахань, Россия, Кубанская улица, д. 3;

<sup>2</sup>ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, 355035, Ставропольский край, г. Ставрополь, Россия, ул. Советская, д. 13-15;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области» Роспотребнадзора, 414024, Астраханская область, г. Астрахань, Россия, ул. Николая Островского, д. 122/89

По данным обследования методом ОТ-ПЦР 1746 экземпляров клещей *H. marginatum*, собранных в Астраханской области, их зараженность вирусом ККГЛ составила 1,5%, что сопоставимо с результатами более ранних исследований, выполненных в разные годы в Астраханской и Ростовской областях и свидетельствующих о таких показателях вирусофорности как 0,1; 0,9; 2,4; 0,6; 0,9 и 2,3% (4, 5, 6, 7). В результате секвенирования фрагментов генома (четырнадцати из 26 изолятов РНК) установлена их принадлежность к генотипу «Европа-1». Семь изолятов из 14 относятся к субтипу Va «Ставрополь—Ростов—Астрахань», два представляют реассортантный генетический вариант S-Vc; M-Vb; L-Va.

Ключевые слова: вирус ККГЛ, зараженность клещей, метод ОТ-ПЦР, секвенирование генома, таксономия.

Для цитирования: Вакалова Е.В., Волынкина А.С., Котенев Е.С., Куликова Л.Н., Викторова Н.В. Детекция и генетическая характеристика РНК-изолятов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выделенных из клещей *Hyalomma marginatum* в Астраханской области (2016 г.). Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017; 22(5) 248-253. DOI: 10.17816/EID40999

Vakalova E.V.<sup>1</sup>, Volynkina A.S.<sup>2</sup>, Kotenev E.S.<sup>2</sup>, Kulikova L.N.<sup>3</sup>, Viktorova N.V.<sup>1</sup>

DETECTION AND GENETIC CHARACTERISTICS OF RNA ISOLATES OF CRIMEAN-CONGO HAEMORRHAGIC FEVER VIRUS FROM THE HYALOMMA MARGINATUM TICKS COLLECTED IN THE ASTRAKHAN REGION (2016)

<sup>1</sup>Astrakhan anti-plague station of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 3, Kubanskaya Street, 414000 Astrakhan, Russia;

<sup>2</sup>Stavropol Scientific Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 13-15, Sovetskaya Str., 355035 Stavropol, Russia;

<sup>3</sup>The center of hygiene and epidemiology for the Astrakhan region of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 122/89, Nikolaya Ostrovskogo Str., Astrakhan region, 414024 Astrakhan, Russia

1,746 specimens of *H. marginatum* ticks collected in the Astrakhan region were examined by RT-PCR, their infection rate with CCHF virus amounted to 1.5%. This is comparable with results of earlier studies performed in different years in the Astrakhan and Rostov regions and testified to such indices of viral resistance as 0.1; 0.9; 2.4; 0.6; 0.9 and 2.3%. As a result of sequencing of fragments of the genome (fourteen of the 26 isolates of RNA, they refer to the genotype «Europe-1.» Seven out of 14 isolates belong to the subtype Va «Stavropol—Rostov—Astrakhan», two represent the reassortant genetic variant S-Vc; M-Vb; L-Va.

Key words: CCHF virus; carriage of virus; RT-PCR; genome sequences.

**For citation:** Vakalova E.V., Volynkina A.S., Kotenev E.S., Kulikova L.N., Viktorova N.V. Detection and genetic characteristics of RNA isolates of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever virus from the *Hyalomma marginatum* ticks collected in the Astrakhan region (2016). *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. Epidemiology and infectious diseases (Russian Journal)*. 2017; 22(5): 248-253. (In Russ.). DOI: 10.17816/EID40999

**For correspondence:** Elena V. Vakalova, MD, the physician of the bacteriological laboratory of the Astrakhan anti-plague station of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare Russia. E-mail: e.vakalova@yandex.ru

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

**Acknowledgement.** The study had no sponsorship.

Received 12.07.2017

Accepted 22.11.2017

Список иксодовых клещей (*Ixodidae*) — переносчиков вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) — насчитывает около 30

Для корреспонденции: Вакалова Елена Владимировна, врач бактериологической лаборатории с группой ПЦР-диагностики и вирусологической группой ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» Роспотребнадзора, E-mail: e.vakalova@yandex.ru

видов и подвидов, относящихся к 6 родам. Во всех эндемичных регионах основное значение в передаче вируса имеют взрослые особи клещей рода *Hyalomma*: в европейских очагах — главным образом *Hyalomma marginatum*. В период с 2005 по 2016 гг. сотрудниками отдела особо опасных инфекций Центра эпидемиологии и гигиены в Астраханской области с крупного рогатого скота

было собрано 8512 экземпляров имаго иксодовых клещей 11 видов: *Hyalomma marginatum* (51,3%), *H. supense* (43,6%), *Dermacentor niveus* (2,2%), *H. anatolicum* (0,9%), *Boophilus annulatus* (0,8%), *Rhipicephalus pumilio* (0,5%), *D. marginatus* (0,4%), *Rh. rossicus* (0,3%), *Haemaphysalis punctata* (0,1%), *H. detritum* (0,01%) и *H. asiaticum* (0,002%). Видовой состав клещей, снятых в те же годы с людей, насчитывал 19 видов, включая *Rh. pumilio* — 1262 особи (57,9%), *H. marginatum* — 4327 (19,9%), *Rh. sanguineus* — 1898 (8,7%), *D. niveus* — 1499 (6,9%), *Rh. turanicus* — 507 (2,3%), *Rh. rossicus* — 388 (1,8%), *I. ricinus* — 322 (1,5%), *H. detritum* — 89 (0,4%), *D. marginatus* — 43 (0,2%), *H. asiaticum* — 23 (0,1%), *Haem. punctata* — 21 (0,1%), *B. annulatus* — 19 (0,1%), *H. dromedarii*, *H. detritum*, *H. aegyptium*, *Rh. schulzei*, *D. reticulatus* были представлены единичными экземплярами в количестве от 0,004 до 0,02%. В предыдущих публикациях, посвящённых изучению фауны иксодовых клещей в Астраханской области, упоминались единичные находки *Ixodes crenulatus*, *Haem. impressum* и *Boophilis calcaratus* [1, 2].

В 1967—1969 гг. методом заражения новорожденных белых мышей в Астраханской области было обследовано 817 экземпляров имаго *H. marginatum* и выделен 1 (0,1%) штамм вируса [3]. Среди 1076 клещей этого вида, снятых в 2006—2010 гг. после присасывания с людей, 10 экземпляров (0,9%) содержали РНК вируса КГЛ. Из 10 человек, укушенных инфицированными клещами, в трёх случаях на основании клинических данных и результатов обследования их сывороток в ОТ-ПЦР, ИФА-IgM и ИФА-IgG был поставлен диагноз КГЛ. У двух других наблюдались острые лихорадочные заболевания, но их обследование методами ОТ-ПЦР и ИФА не проводилось, поэтому связь этих случаев с вирусом КГЛ достоверно не установлена. По этим данным расчётные показатели инфицирования укушенных лиц, выраженного в развитии симптомов заболевания КГЛ, составили 0,3—0,4% [4]. По данным А.В. Топоркова и соавт. [5], при обследовании методом ОТ-ПЦР 207 пулов клещей, собранных в 4 районах Астраханской области, РНК вируса КГЛ была обнаружена в 5 пробах (2,4%).

В Ростовской области из 1429 особей клещей трех видов было изолировано 14 (1,0%) штаммов: 4 (0,3%) из *H. marginatum*, 9 (0,6%) из *Rhipicephalus rossicus* и 1 (0,1%) из *Dermacentor marginatus*. Среди 295 суспензий иксодовых клещей (28 537 экземпляров) методом ИФА антиген вируса КГЛ был выявлен в 33 (1,1%) пробах. Вирусофорность *H. marginatum* и *Rh. rossicus*, снятых с КРС, составила соответственно 2,3 и 1,5%, *D. marginatus* *H. marginatum*, *Rh. rossicus* собранных на «флаг» — соответственно 0,9, 0,8 и 0,6%. В 66,7% случаев

положительные результаты ИФА были подтверждены в ОТ-ПЦР [6].

С.В. Серегин и соавт. [7], на основании результатов множественного выравнивания нуклеотидных и выведенных аминокислотных последовательностей S-сегмента РНК, установили высокую степень гомологии трёх российских штаммов вируса КГЛ и штамма из Болгарии (различия не превышали 1,25%). Ростовский штамм TI28044 оказался наиболее близким прототипному астраханскому штамму «Дроздов»: отличия в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях составили 1,4/0,8%, нуклеотидные различия в кодирующей части S-сегмента между этими штаммами равнялись 1,2%. Различий между штаммом TI28044 и ставропольским штаммом HU12923 в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях кодирующей части составили 1,5/0,8%. Полученные данные позволили авторам установить принадлежность исследованных штаммов к 1-й генетической группе вируса КГЛ и сделать вывод об однородности популяции штаммов, циркулирующих в эндемичных регионах России на протяжении, как минимум, нескольких десятилетий.

Результаты филогенетического анализа L-сегмента в целом совпали с данными анализа малого сегмента. Характеристика последовательностей M-сегмента не представляет возможности четкой кластеризации российских штаммов по географическому принципу, так как у некоторых изолятов наблюдается переход из одной генетической группы в другую, что вероятно связано с реассортацией в средних геномах РНК.

По данным Л.С. Карань и соавт. [8] уровень гомологии нуклеотидных последовательностей фрагмента S-сегмента РНК российских штаммов, штаммов из эндемичных стран южной Европы и Турции находится в пределах 94,3—100%. Среди них выделяются 2 кластера: 1-й содержит последовательности РНК, изолированные в Астраханской области, Ставропольском крае и частично в Ростовской области; 2-й — образцы из Волгоградской области и часть из других эндемичных регионов России. Изоляты из Косово, Албании и Турции обладают высоким уровнем гомологии и отличаются от болгарского штамма V-42.

При анализе аминокислотных последовательностей фрагмента нуклеопротеина образуются 3 группы изолятов: 1-я включает все южнороссийские образцы (за исключением группы А-6 астраханских штаммов из клещей), 2-я — штамм М-42 из Болгарии, 3-я — группа А. Изоляты вируса КГЛ, выделенные в разные годы в Ростовской области, не отличаются от штаммов волгоградской и астраханско-ставропольской группы. Штаммы своеобразной астраханской группы А и астраханско-ставропольской группы

циркулируют одновременно на одних и тех же территориях.

А.С. Волынкина и соавт. [9], в результате обследования методом ОТ-ПЦР 1300 пулов иксодовых клещей, собранных в 2012—2014 гг. в южном регионе Европейской части России, определили следующие показатели их заражённости вирусом ККГЛ: *Hyalomma marginatum* — 3,7%, *H. scupense* — 0,7%, *Rhipicephalus rossicus* — 0,3%, *Boophilus annulatus* — (0,1%). РНК-изоляты вируса ККГЛ были получены из 50-и ПЦР-положительных проб *H. marginatum*, *H. scupense*, а также 225 проб сывороток крови больных ККГЛ. При частичном секвенировании S-, M- и L-сегментов РНК было установлено, что большинство из изолятов (270; 98,2%) относятся к генетической группе «Европа-1» (v), подразделяющуюся на 3 подгруппы: «Ставрополь—Ростов—Астрахань-1» (Va), близкий штамму STV/29223 и кластеру «Волгоград—Ростов—Ставрополь» (Vb), а также ростовскому штамму ROS/ГП/28044 и кластеру «Астрахань-2» (Vc) (KF496920, KF496921). Один изолят из сыворотки крови больного человека отнесён в группу «Африка» близкую штамму SPU415/85, а четыре, выделенные из *H. marginatum*, отличались от всех ранее охарактеризованных штаммов и сформировали новую группу «Kalmykia» (VIII).

При сравнении полноразмерных геномов штаммов вируса ККГЛ, выделенных от больных в 1967 г. («Дроздов», Астрахань, «Кашманов», Ростов-на-Дону) и четырех штаммов, изолированных от больных людей в 2013 г., А.С. Климентовым и соавт. [10] установлена высокая степень их идентичности (98,5%) по S- и L-сегментам, что указывает на низкую эволюционную скорость накопления замен у вируса ККГЛ. При анализе последовательностей открытых рамок считывания M-сегментов идентичность новых астраханских штаммов со штаммом «Дроздов» составила около 98%, но всего 94% со штаммом «Кашманов» из Ростовской области, что сравнимо с генетическими дистанциями от штаммов из Турции и Косово. Эти результаты указывают на существование двух отдельных вариантов M-сегмента РНК внутри российской филогенетической группы вируса ККГЛ, которые могли возникнуть в результате реассортации.

Настоящая работа посвящена изучению заражённости клещей *Hyalomma marginatum*, вирусом ККЛ и генотипированию РНК-изолятов штаммов вируса ККГЛ, циркулирующего в Астраханской области.

#### Материалы и методы

В 2016 г. ФКУЗ «Астраханской противочумной станции (ПЧС)» методом ОТ-ПЦР на наличие РНК вируса ККГЛ было обследовано 1746 экземпляров (171 пул) имаго клещей *H. marginatum*, снятых с

крупного рогатого скота и объединённых в пулы по видам, полу, месту и времени сбора. Пулы голодных или полунапитавшихся клещей состояли из 10 экземпляров, напитавшихся особей обследовали индивидуально. Для обследования методом ПЦР пул клещей помещали в микроцентрифужную пробирку типа Эппендорф, добавляли 1 мл 70% этанола, встряхивали на вортексе, затем центрифугировали в течение 3—5 сек при 5000 об/мин на центрифуге MiniSpin («Eppendorf», Германия) после чего жидкость удаляли с помощью вакуумного отсасывателя. Затем в пробирку добавляли 1 мл 0,15 М раствора хлорида натрия, встряхивали на вортексе, снова центрифугировали и удаляли отмывочную жидкость. Для приготовления клещевых суспензий использовали стерильные охлаждённые фарфоровые ступки и пестики. В случае гомогенизации напитавшегося клеща, его предварительно прокалывали стерильной одноразовой иглой в нескольких местах для выхода крови. Индивидуальные пробы клещей растирали в 700 мкл или в 1—1,5 мл (если гомогенизировали пул клещей или напитавшегося клеща) охлажденного физиологического раствора хлорида натрия. Полученную суспензию центрифугировали 1 мин при 10 000 об/мин и отбирали 50 мкл надосадочной жидкости для выделения РНК.

Выделение РНК вируса ККГЛ из суспензии клещей проводили с использованием комплекта реагентов «Рибо-преп» (производства ООО «ИнтерЛаб Сервис», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Проведение обратной транскрипции и ПЦР-амплификации с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, анализ и учет результатов осуществляли на амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) с использованием набора реагентов «Ампли Сенс® ССНФV-FL» для выявления РНК вируса ККГЛ в биологическом материале (производства ООО «Интерлабсервис», Россия).

В Ставропольском ПЧИ индикацию вируса ККГЛ в РНК-положительных суспензиях клещей *Hyalomma marginatum*, полученных из Астраханской ПЧС, осуществляли методом ПЦР с использованием аналогичного набора реагентов для выявления РНК вируса ККГЛ «АмплиСенс® ССНФV-FL» (ООО «Интерлабсервис», Россия). Экстракцию РНК из образцов клинического и полевого материала и получение комплементарной ДНК производили с помощью наборов реагентов «РИБО-преп» и «РЕВЕРТА-L-100» (ООО «Интерлабсервис», Россия).

Генетическую идентификацию вируса ККЛ проводили методом секвенирования трёх участков генома вируса: фрагментов 115—652 кодирующей области малого (S) сегмента генома (538 п.о.),



фрагмента 4620—5075 кодирующей области среднего (M) сегмента генома (435 п.о.) и фрагмента 105—541 кодирующей области большого (L-) сегмента генома (437 п.о.) с последующим филогенетическим анализом (позиции фрагментов приводятся по полноразмерным последовательностям S-, M-, и L-сегментов штамма ROS/HUVLV-100, GenBank DQ206447, DQ206448, AY995166, соответственно).

Нуклеотидные последовательности фрагментов генома изолятов вируса ККГЛ, полученные в данной работе, сравнивали с имеющимися последовательностями штаммов вируса, полученными из базы данных GenBank. Анализ уровня генетического родства и построение филогенетических деревьев проводили в программе Mega 5.05 с использованием метода Neighbour joining, по алгоритму Kimura-2, статистическую достоверность топологии филогенетических деревьев проверяли с помощью Bootstrap-анализа, вычисления проводили для 1000 повторов. Генотип/субтип изолятов вируса ККГЛ определяли на основании сравнения кластерной позиции изолята при проведении филогенетического анализа по фрагментам 3 сегментов (S-, M- и L-) генома вируса.

### Результаты и обсуждение

Все 26 суспензий *H. marginatum* клещей (№№ 1—26), положительных на РНК вируса ККГЛ в Астраханской ПЧС, оказались позитивными при обследовании методом ОТ-ПЦР в Референс-центре по мониторингу ККГЛ в Ставропольском ПЧИ. Были установлены нуклеотидные последовательности участков генома 14 изолятов РНК, (№№ 2, 3, 4, 11, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 23, 24, 25, 26) — фрагментов кодирующей области S-сегмента (538 п.н., 179 аа) M-сегмента (435 п.н., 145 аа) и L-сегмента (147 п.н., 147 аа). Секвенированные последовательности были использованы для проведения филогенетического анализа.

Выполнить секвенирование фрагментов S-, M- и L- сегментов генома 12 изолятов вируса ККГЛ, выявленных в суспензиях клещей (№№ 1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 17, 18, 19, 22) не удалось вследствие низкой вирусной нагрузки в образцах.

Филогенетический анализ по фрагментам S-, M- и L-сегментов генома вируса показал, что исследуемые образцы кластеризуются с ранее охарактеризованными образцами субтипов Va — «Ставрополь—Ростов—Астрахань-1» (типовой штамм STV/29233), Vb — «Волгоград—Ростов—Ставрополь» (типовой штамм ROS/T128044) и Vc (типовой изолят 5185-ASTR/HU-2011) генотипа «Европа-1» (V), характерного для

территории юга России. Генотип/субтип изолятов вируса ККГЛ, определяли на основании сравнения кластерной позиции изолята при проведении филогенетического анализа по фрагментам 3 сегментов (S-, M- и L-) генома вируса (см. таблицу).

При проведении филогенетического анализа было установлено, что изоляты РНК вируса ККГЛ, выявленные в двух образцах суспензий клещей № 16, 26, по S-сегменту входят в подгруппу Vc «Астрахань-2», по M-сегменту — в подгруппу Vb «Волгоград—Ростов—Ставрополь», по L-сегменту — в подгруппу Va «Ставрополь—Ростов—Астрахань» и относятся к «реассортантному» генетическому варианту (S-Vc; M-Vb; L-Va;) генотипа «Европа-1».

Для 6 изолятов вируса ККГЛ, выявленных в 5 пробах суспензий клещей №№ 2, 11, 20, 21, 24 не удалось секвенировать нуклеотидную последовательность фрагментов всех сегментов генома. Нуклеотидные последовательности фрагмента S-сегмента изолятов в пределах субтипа Vc, оказались практически идентичными, обнаружена лишь 1 нуклеотидная замена между изолятами этого субтипа. Изоляты, формирующие субтип Vc на филогенетическом дереве по фрагменту S сегмента, при анализе по фрагменту M-сегмента входили в группу Vb, при анализе по фрагменту L-сегмента — в группу Va. Средние различия нуклеотидных последовательностей фрагмента M-сегмента в пределах группы Vb составили 1,4 %, (диапазон 0,5—2,3 %), нуклеотидные различия изолятов 16-ASTR/TI-2016 и 26-ASTR/TI-2016 от остальных штаммов субтипа Vb — составили 1,6—2,3 %. Средние различия нуклеотидной после-

Результаты генетического типирования изолятов РНК вируса ККГЛ в суспензиях клещей *H. marginatum* из Астраханской области.

Номер образца	Административный район	Сегменты РНК			Генотип (субтип)
		S	M	L	
2	Красноярский	Va	-	Va	Европа-1:
3	Красноярский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
4	Красноярский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
11	Красноярский	Vc	-	Va	Европа-1:
13	Красноярский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
14	Красноярский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
15	Красноярский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
16	Красноярский	Vc	Vb	Va	Европа-1: S-Vc; M-Vb; L-Va;
20	Красноярский	Vc	-	-	Европа-1:
21	Красноярский	Va	-	Va	Европа-1:
23	Камызякский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
24	Камызякский	Va	-	Va	Европа-1:
25	Камызякский	Va	Va	Va	Европа-1: S-Va; M-Va; L-Va;
26	Приволжский	Vc	Vb	Va	Европа-1: S-Vc; M-Vb; L-Va;

довательности фрагмента L-сегмента в пределах субтипа Va составили 0,9 % (диапазон 0—1,8 %), нуклеотидные различия изолятов 11-ASTR/ТИ-2016, 16-ASTR/ТИ-2016 и 26-ASTR/ТИ-2016 от остальных штаммов субтипа Va — составили 0,5—1,8 %.

Среднеразличия нуклеотидных последовательностей в пределах субтипа Va составили по фрагменту S-сегмента — 1,1 % (диапазон — 0—2,2 %), по фрагменту M-сегмента — 1,6 % (диапазон — 0—2,3 %), по фрагменту L-сегмента — 0,9 % (диапазон 0—1,8 %). Различия нуклеотидных последовательностей между изолятами субтипов Va и Vc по фрагменту S-сегмента составили 4,5 %, (диапазон 3,3—4,5 %), между изолятами субтипов Va и Vb по фрагменту M-сегмента — 5,7 % (диапазон 4,6—6,4 %).

Анализ выведенной аминокислотной последовательности фрагмента кодирующей области S-сегмента позволил выявить 4 аминокислотные замены между изолятами субтипов Va и Vc. Аминокислотных различий между изолятами субтипов Va и Vb не выявлено. Различия выведенной аминокислотной последовательности фрагмента кодирующей области M-сегмента между изолятами субтипов Va и Vb составили 3,4—6,9 % (5—10 аминокислотных замен). Изоляты 16-ASTR/ТИ-2016 и 26-ASTR/ТИ-2016 от остальных штаммов субтипа Vb по аминокислотной последовательности фрагмента M-сегмента отличались на 1,37—3,4 % (3—5 аминокислотных замен).

Аминокислотных различий между изолятами субтипов Va и Vb при анализе выведенной аминокислотной последовательности фрагмента кодирующей области L-сегмента не обнаружено. Среди изолятов субтипа Va выявлены единичные аминокислотные замены. Уникальные аминокислотные замены, отличающих изоляты 11-ASTR/ТИ-2016, 16-ASTR/ТИ-2016 и 26-ASTR/ТИ-2016 от других изолятов субтипа Va, отсутствовали.

### Заключение

По данным обследования методом ОТ-ПЦР 1746 экземпляров клещей *H. marginatum*, собранных в Астраханской области, их зараженность вирусом ККГЛ составила 1,5%, что сопоставимо с результатами более ранних исследований, выполненных в разные годы в Астраханской и Ростовской областях и свидетельствующих о таких показателях вирусофорности как 0,1; 0,9; 2,4; 0,6; 0,9 и 2,3% (4, 5, 6, 7). В результате секвенирования фрагментов генома (четырнадцати из 26 изолятов РНК установлена их принадлежность к генотипу «Европа-1». Семь изолятов из 14 относятся к субтипу Va «Ставрополь—Ростов—Астрахань», два представляют реассортантный генетический вариант S-Vc; M-Vb; L-Va.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Зими́на Ю.В., Биру́ля Н.Б., Березин В.В. и соавт. *Материалы зоолого-паразитологической характеристики крымской геморрагической лихорадки в Астраханской области. Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов.* М.: 1965; 7: 288—395.
2. Зими́на Ю.В., Куликова Л.Н., Салько В.Н., Ковтунов А.И. *Иксодовые клещи в Астраханской области, их роль в формировании природных очагов и передаче арбовирусов человеку. Вопросы риккетсиологии и вирусологии (Сборник научных трудов),* Астрахань—Москва: 1996; 58—62.
3. Бутенко А.М. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка. В кн. *Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке,* М.: Медицина; 2003: 365—76.
4. Путилина Н.Г., Мальков П.М., Куликова Л.Н. и соавт. Детекция РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в клещах *Hyalomma marginatum*, снятых с покусанных людей. *Вопросы вирусологии,* 2012; 3: 37—40.
5. Топорков А.В., Кабин В.В., Тарасов М.А. и соавт. Организационно-методические аспекты обследования сочетанных очагов особоопасных арбовирусных и бактериальных инфекций (на примере Среднего и Нижнего Поволжья). В сб.: *Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции».* Астрахань, 17—20 октября 2006 г. М.; 2007: 147—9, Издательство «Гриф и К»
6. Москвитина Э.А., Водяницкая С.Ю., Ломов Ю.А. и соавт. Современное состояние природного очага крымской геморрагической лихорадки в Ростовской области. В сб.: *Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции».* Астрахань, 17—20 октября 2006 г. М.; 2007: 128—32. Издательство «Гриф и К»; Тула.
7. Серегин С.В., Петрова И.Д., Вышемирский О.И. и соавт. Изучение генетической вариативности штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих в России и странах Средней Азии. В сб.: *Арбовирусы и арбовирусные инфекции. Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции».* Астрахань, 17—20 октября 2006 г. М.; 2007: 52—6. Издательство «Гриф и К»; Тула.
8. Карань Л.С., Платонов А.Е., Смирнова С.Е. и соавт. Генетические исследования при Крымской геморрагической лихорадке: от диагностики до молекулярной эпидемиологии. *Материалы расширенного пленума проблемной комиссии «Арбовирусы» и научно-практической конференции «Арбовирусы и арбовирусные инфекции».* Астрахань, 17—20 октября 2006 г. М.; 2007: 57—61, Издательство «Гриф и К»; Тула.
9. Volynkina A.S., Kotenov E.S., Lisitskaya V.V. Genetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the South of Russia. *1<sup>st</sup> International Conference on Crimean-Congo hemorrhagic fever; 13—14 February 2015, Thessaloniki, Greece.* Abstracts, 10.
10. Klimentov A.S., Butenko A.M., Larichev V.F. et al. *Genetic diversity of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Russia. 1<sup>st</sup> International Conference on Crimean-Congo.*

## REFERENCES

- Zimina Yu.V., Birulya N.B., Berezin V.V. et al. Data on zoological and parasitological investigation of Crimean haemorrhagic fever in Astrakhan region. In: *Endemical viral infection. Transaction of Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis*. [Materialy zoologo-parazitologicheskoy kharakteristiki krymskoy gemorragicheskoy likhoradki v Astrakhanskoj oblasti. *Trudy Instituta poliomielitita i virusnykh encefalitov*]. Moscow: 1965; 7: 288—395. (in Russian)
- Zimina Yu.V., Kulikova L.N., Sal'ko V.N., Kovtunov A.I. Ixodidae ticks in Astrakhan region, their role in formation of natural foci and transmission of arboviruses to human being. In: *Problems of rickettsiology and virology*. [Iksodovye kleshchi v Astrakhanskoj oblasti, ikh rol' v formirovanii prirodnykh ochagov i peredache arbovirusov cheloveku. *Voprosy rikketsiologii i virusologii (Sbornik nauchnykh trudov)*]. Astrakhan'—Moscow: 1996; 58—62. (in Russian)
- Butenko AM. Crimean-Congo hemorrhagic fever. In: *Evolution of Infectious Diseases in Russia in the XX Century*. [Krymskaya-Kongo gemorragicheskaya likhoradka. V kn.: *Evolyutsiya infektsionnykh bolezney v Rossii v XX veke*]. Moscow: 2003; 365—76. (in Russian)
- Putilina N.G., Mal'kov P.M., Kulikova L.N. et al. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus RNA in the *Hyalomma marginatum* ticks from bitten people. *Problemy virusologii*. 2012; (3): 37—40. (in Russian)
- Toporkov A.V., Kabin V.V., Tarasov M.A. et al. Organizational and methodological aspects investigation of foci of hazardous arboviral and bacterial infections. In: *Arboviruses and arboviral infections. Materials of the scientific conference, Astrakhan', 17—20 October, 2006*. [Organizatsionno-metodicheskie aspekty obsledovaniya sochetannykh ochagov osoboopasnykh arbovirusnykh i bakterial'nykh infektsiy (na primere Srednego i Nizhnego Povolzh'ya) V sbornike: *Arbovirusy i arbovirusnye infektsii. Materialy rasshirenogo plenuma problemnoy komissii «Arbovirusy» i nauchno-prakticheskoy konferentsii «Arbovirusy i arbovirusnye infektsii», Astrahan', 17—20 oktyabrya 2006 g.*] Moscow: 2007; 147—9. (in Russian)
- Moskvitina Ye.A., Vodyanitskaya S.Yu., Lomov Yu.A. et al. Current status of Crimean hemorrhagic fever focus in Rostov region. In: *Arboviruses and arboviral infections. Materials of the scientific conference, Astrakhan, 17—20 October*. [Sovremennoe sostoyanie prirodnogo ochaga krymskoy gemorragicheskoy likhoradki v Rostovskoy oblasti. V sbornike: *Arbovirusy i arbovirusnye infektsii. Materialy rasshirenogo plenuma problemnoy komissii «Arbovirusy» i nauchno-prakticheskoy konferentsii «Arbovirusy i arbovirusnye infektsii», Astrahan', 17—20 oktyabrya 2006 g.*] Moscow: 2007; 128—32. (in Russian)
- Seregin S.V., Petrova I.D., Vyshemirskiy O.I. et al. Study of genetical variability of Crimean-Congo virus strains circulated in the Russia and Middle Asiatic states. In: *Arboviruses and arboviral infections. Materials of the scientific conference, Astrakhan, 17—20 October 2006 g.* [Izuchenie geneticheskoy variabil'nosti shtammov virusa Krymskoy-Kongo gemorragicheskoy likhoradki, cirkuliruyushchikh v Rossii i stranakh Sredney Azii. V sbornike: *Arbovirusy i arbovirusnye infektsii. Materialy rasshirenogo plenuma problemnoy komissii «Arbovirusy» i nauchno-prakticheskoy konferentsii «Arbovirusy i arbovirusnye infektsii», Astrahan', 17—20 oktyabrya 2006 g.*] Moscow; 2007; 52—6. Izdatel'stvo «Grif i K»; Tula. (in Russian)
- Karan' L.S., Platonov A.E., Smirnova S.E. et al. Genetical investigation on Crimean hemorrhagic fever: from diagnosis to molecular epidemiology. In: *Arboviruses and arboviral infections. Materials of the scientific conference, Astrakhan, 17—20 October, 2006*. [Geneticheskie issledovaniya pri Krymskoy gemorragicheskoy likhoradke: ot diagnostiki do molekulyarnoy ehpidemiologii. In: *Materialy rasshirenogo plenuma problemnoy komissii «Arbovirusy» i nauchno-prakticheskoy konferentsii «Arbovirusy i arbovirusnye infektsii», Astrahan', 17—20 oktyabrya 2006 g.*] Moscow; 2007; 57—61. Izdatel'stvo «Grif i K»; Tula. (in Russian)
- Volynkina A.S., Kotenov E.S., Lisitskaya V.V. Genetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the South of Russia. *1<sup>st</sup> International Conference on Crimean-Congo hemorrhagic fever, 13—14 February 2015, Thessaloniki, Greece*. Abstracts.
- Klimentov A.S., Butenko A.M., Larichev V.F. et al. *Genetic diversity of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Russia. 1<sup>st</sup> International Conference on Crimean-Congo*.

Поступила 12.07.2017

Принята в печать 22.11.2017

## Сведения об авторах:

**Волынкина Анна Сергеевна**, науч. сотр. лаб. природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, E-mail: volyn444@mail.ru; **Котенев Егор Сергеевич**, канд. биол. наук, зав. лаб. природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора; E-mail: egor\_kotenev@mail.ru; **Куликова Любовь Николаевна**, энтомолог ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Астраханской области»; **Викторова Наталья Викторовна**, зоолог-паразитолог ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» Роспотребнадзора.