

Якименко В.В., Малькова М.Г., Тюлько Ж.С.,
Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Василенко А.Г.

**Трансмиссивные вирусные инфекции Западной Сибири
(региональные аспекты эпидемиологии,
экологии возбудителей и вопросы микроэволюции)**

Монография

Омск – 2019

УДК 578 (571.1)
ББК 28.3
Т 65

Рецензенты:

Злобин Владимир Игоревич – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, г. Иркутск.
Богданов Игорь Иванович – доктор биологических наук, профессор, г. Омск.

Утверждено к печати

Ученым советом ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора (протокол № 9 от 25.12.2018 г.)

Т65 Трансмиссивные вирусные инфекции Западной Сибири (региональные аспекты эпидемиологии, экологии возбудителей и вопросы микроэволюции) / Якименко В.В., Малькова М.Г., Тюлько Ж.С., Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Василенко А.Г. – Омск: Издательский центр КАН, 2019. – 312 с.

ISBN 978-5-907156-30-2

Авторами монографии обобщены материалы, отражающие историю изучения, распространение, эпидемическую активность, особенности эпизоотической активности и структуры природных очагов эндемичных (клещевой энцефалит (КЭ); омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ); лихорадка Кемерово; инфекции, ассоциированные с вирусами серогруппы Калифорнийского энцефалита (СКаЭ) и заносимых (лихорадка Западного Нила (ЛЗН) арбовирусных инфекций, переносчиками которых являются иксодовые клещи и кровососущие комары. Используются материалы собственных вирусологических, молекулярно-биологических, зоолого-паразитологических исследований, а также результаты математической и статистической обработки архивных данных лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора за 50-летний период, материалов официальной отчетности региональных служб Роспотребнадзора по заболеваемости КЭ, материалы по численности и распределению эпидемически значимых переносчиков за весь период исследований инфекции в Курганской, Тюменской, Омской, Томской, Новосибирской областях, Алтайского Края и ХМАО-Югра. Приведены результаты использования временных рядов данных большой протяженности, отражающие связи биологических факторов с динамикой заболеваемости клещевым энцефалитом. Показаны особенности структуры природных очагов лихорадки Западного Нила в Западной Сибири, объясняющие низкий уровень эпидемической активности. На основании собственных исследований и опубликованных в научной литературе материалов проведен анализ взаимоотношений между сочленами паразитарных систем природных очагов КЭ и ОГЛ. Отдельный раздел затрагивает вопросы формообразования у вирусов и вероятных молекулярных механизмов регуляции данного процесса. Книга снабжена черно-белыми и цветными иллюстрациями, картосхемами и фотографиями.

Книга предназначена для научных работников и специалистов практического здравоохранения и санитарно-эпидемиологической службы, занимающихся проблемой природной очаговости инфекций, а также для студентов и аспирантов медицинских и биологических специальностей.

Табл. 13, Ил. 43, Библ. 400.

УДК 578 (571.1)
ББК 28.3

ISBN 978-5-907156-30-2

© Якименко В.В., Малькова М.Г., Тюлько Ж.С.,
Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Василенко А.Г.

Оглавление

Предисловие	4
Раздел 1. Арбовирусные инфекции, экологически связанные с клещами.....	8
Глава 1.1. Фауна иксодовых и гамазовых клещей в природных очагах арбовирусных инфекций в Западной Сибири	8
1.1.1. Иксодовые клещи	8
1.1.2. Гамазовые клещи	31
Глава 1.2. Омская геморрагическая лихорадка	38
Глава 1.3. Клещевой энцефалит	75
Глава 1.4. Кемеровская клещевая лихорадка	144
Раздел 2. Инфекции, передаваемые кровососущими комарами	154
Глава 2.1. Общая характеристика фауны кровососущих комаров Западной Сибири	154
Глава 2.2. Лихорадка Западного Нила	174
Глава 2.3. Вирусы серогруппы калифорнийского энцефалита	198
Раздел 3. Особенности изменчивости геномов флавивирусов и проблема эволюции вирусов (информационные и биологические аспекты).....	203
Приложения	256
Заключение	265
Список литературы	270

Предисловие

Природно-очаговые инфекции, имеющие вирусную этиологию, являются существенной проблемой здравоохранения абсолютного большинства государств мира. Это и их весомый вклад в инфекционную патологию населения, и – как правило – отсутствие специфических средств профилактики и лечения заболевания, и сам характер, часто – непредсказуемый, возникновения эпидемических вспышек. Российская Федерация в целом, и субъекты Федерации, расположенные в географических границах Западной Сибири, не являются исключением. Несмотря на достаточно протяженный период наблюдения за некоторыми, эндемичными для региона, инфекциями, к которым относятся клещевой энцефалит (начало выявления заболеваемости и официальной регистрации – между 1952 и 1962 гг., редко раньше), и омская геморрагическая лихорадка (с 1946 г.), проблема контроля за заболеваемостью этими опасными для человека инфекциями остается актуальной.

Клещевой энцефалит (КЭ) в Западной Сибири продолжает оставаться на второй позиции в группе природно-очаговых инфекций в регионе по уровню заболеваемости, уступая только иксодовым клещевым боррелиозам, характеризуется многолетней динамикой инфекционного процесса с периодическим ростом и спадами. Для данной инфекции характерны изменения границ нозоареала на протяжении всего периода наблюдений. Омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ), напротив, характеризуется периодами эпидемических вспышек, чередующихся с длительными временными интервалами относительного эпидемического благополучия. Нозоареал данной инфекции не претерпел изменений и локализован на достаточно небольшой территории четырех субъектов Сибирского Ф.О.

Кроме известных для региональных служб здравоохранения инфекций, для ряда нозологических форм, имеющих вирусную этиологию, существование их природных очагов в регионе неизвестно (такowymi являются лихорадка Западного Нила и инфекции, ассоциированные с вирусами комплекса калифорнийского энцефалита), или они оказались незаслуженно

забыты на длительный промежуток времени (заболевания, вызываемые вирусами группы Кемерово). Тем не менее, длительный период исследований, проводимых в РФ по возбудителям данных инфекций, позволяет уже на сегодняшнем уровне наших знаний о них охарактеризовать риски, связанные с существованием их природных очагов в Западной Сибири.

Авторы при подготовке данных материалов осознавали отсутствие доступной информации, охватывающей основные стороны эпидемиологии, экологии возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций в Западной Сибири. При подготовке материалов стало понятным, что ряд выявляемых закономерностей, характеризующих состояние природных очагов клещевого энцефалита, имеют разный характер в равнинных и горных частях Западной Сибири и Алтая. Поэтому в рамках данной публикации авторы ограничились анализом и объединением имеющейся информации только по равнинной части региона.

В монографии обобщены материалы исследований лаборатории арбовирусных инфекций (до 1999 г. – трансмиссивных вирусных инфекций) отдела природно-очаговых вирусных инфекций ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора за 50-летний период, в том числе собственные материалы авторов за 37-летний период. Кроме того проанализированы все доступные материалы официальной отчетности региональных служб Роспотребнадзора по заболеваемости КЭ, а также по численности и распределению эпидемически значимых переносчиков за весь период исследований инфекции в регионе. К сожалению, по некоторым административным территориям эти материалы имеют более короткие интервалы, что связано с утратой архивов в процессе реорганизации службы в 90-х гг. XX века. Также к анализу привлечены основные публикации в открытой печати сотрудников различных научных учреждений бывшего СССР, РФ и за рубежом.

Авторы далеки от мысли о полном охвате вопросов, освещающих проблемы природно-очаговых инфекций в регионе.

Однако в процессе анализа материалов регионального характера периодически возникала необходимость обращения к проблемам глобального характера, в связи с чем в монографии присутствуют разделы, выходящие за рамки региональных вопросов.

Отдельные фрагменты работ выполнялись совместно с коллегами из ФБУН НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва), Новосибирским НИИХБФМ СО РАН, Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН, сотрудниками сибирских учреждений санэпидслужбы. В разные периоды времени отдельные фрагменты лабораторных и полевых исследований выполнялись совместно с сотрудниками института и лаборатории. Это доктора наук – профессор Бусыгин Ф.Ф. (являвшийся руководителем лаборатории с момента её организации в 1968 г. до 1999 г.), Тагильцев А.А. и профессор Богданов И.И. Вирусологические исследования 80-х гг. XX века выполнены совместно с кандидатами наук Тарасевич Л.Н., Лебедевым Е.П., Мансуровым П.Г. и научным сотрудником Россолов М.А. На начальном периоде применения молекулярно-биологических методов в исследовании вирусов работа выполнялась совместно с кандидатом наук Дрокиным Д.А. Полевые исследования на протяжении многих лет проводились с участием Танцева А.К. В процессе подготовки рукописи понес потерю и авторский коллектив – не стало доктора наук Мальковой М.Г. Авторы выражают глубокую благодарность здравствующим и помнят об ушедших.

Авторы выражают глубокую благодарность руководству института в лице его директора – доктора медицинских наук, профессора Рудакова Н.В., за поддержку в процессе подготовки рукописи.

Авторы надеются, что изложенные в монографии материалы будут полезны как для научных работников, занимающихся проблемой природно-очаговых инфекций, так и для практиков в вопросах прогноза и профилактики инфекций. Также поднятые вопросы требуют дальнейшей разработки, что, надеемся, не останется без внимания сотрудников НИИ.

Авторский коллектив:

Якименко Валерий Викторович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (Разделы 1, 2, 3);

Малькова Марина Георгиевна (1961 – 2015 гг.) – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (главы 1.1, 1.2 и 1.4 раздела 1, глава 2.1 раздела 2);

Ткачев Сергей Евгеньевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник) лаборатории молекулярной генетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (главы 1.4 и 1.5 раздела 1, 2.2 раздела 2);

Тюлько Жанна Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (главы 1.3 и 1.4 раздела 1 и раздел 3);

Макенов Марат Темирханович – кандидат биологических наук, на момент подготовки монографии – старший научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (в настоящее время – научный сотрудник ФБУН НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва) (глава 1.4 раздела 1);

Василенко Алексей Геннадиевич – научный сотрудник лаборатории арбовирусных инфекций отдела ПОВИ ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (глава 2.2 раздела 2).

РАЗДЕЛ 1. АРБОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ, ЭКОЛОГИЧЕСКИ СВЯЗАННЫЕ С КЛЕЩАМИ

Глава 1.1. Фауна иксодовых и гамазовых клещей в природных очагах арбовирусных инфекций Западной Сибири и Алтая

1.1.1. Иксодовые клещи

Общие представления об иксодовых клещах

Известно, что иксодовые клещи являются переносчиками и резервуарами возбудителей многих природно-очаговых заболеваний вирусной, бактериальной и протозойной этиологии, часто выделяемых в группу так называемых «клещевых инфекций». Из арбовирусных инфекций, связанных с иксодовыми клещами, на территории Западной Сибири наибольшее медико-ветеринарное значение имеют клещевой энцефалит (КЭ) и омская геморрагическая лихорадка (ОГЛ).

Все иксодиды являются высокоспециализированными паразитами наземных позвоночных животных, в первую очередь млекопитающих и птиц. Согласно классификации Ю.С. Балашова (1982), иксодовые клещи принадлежат к экологической группе временных паразитов с длительным питанием. Все активные фазы (личинка, нимфа, имаго) являются кровососущими и питаются однократно. Каждое питание, в зависимости от видовой принадлежности, климатических условий, сезонных особенностей и ряда других показателей, занимает несколько суток (от 1 до 4 сут. – у личинок, 4–7 сут. – у нимф и от 3 до 22 сут. – у самок) и сопровождается многократным увеличением размеров тела (Балашов, 1998; Якименко и др., 2013). Питание обеспечивает линьку на следующую фазу развития или яйцекладку. Величина кладки существенно варьирует у разных видов (от 800–1000 до 10–20 тыс. яиц) и зависит от полноты напитывания самки, т.е. от количества поглощенной крови (Балашов, 1998).

По числу сменяемых хозяев и месту линьки жизненные циклы клещей подразделяются на одно-, двух- и трёххозяинные. Все иксодовые клещи фауны Западной Сибири относятся к группе трёххозяинных (каждая фаза развития питается на теле «своего» хозяина и их дальнейшее развитие происходит в почве, растительной подстилке, норах или гнездах хозяев).

По месту встречи голодной особи клеща с хозяином иксодовых клещей подразделяют на *пастбищных* (пастбищно-подстерегающий тип паразитизма), *гнездово-норовых* (гнездово-норовый, или убежищный тип паразитизма) и *пастбищно-норовых* (смешанный тип паразитизма).

Большинство иксодовых клещей Западной Сибири и Алтая относятся к группе *пастбищных клещей*, у которых голодные особи нападают на хозяев вне убежищ, подстерегая их среди растительности: таёжный клещ (*Ixodes persulcatus* P. Sch. 1930), *Ixodes pavlovskyi* Pom., 1946, луговой клещ (*Dermacentor reticulatus* Fabr., 1894), степной клещ (*Dermacentor marginatus* Shulz., 1776), лесостепной клещ (*Dermacentor silvarum* Olenov, 1931), *Dermacentor nuttalli* Olenov, 1929 и *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844. Личинки и нимфы клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* питаются на мелких млекопитающих и (или) птицах, экологически связанных с приземным ярусом, а взрослые клещи паразитируют на млекопитающих и (или) птицах среднего и крупного размера. Самцы пастбищных клещей р. *Ixodes* – факультативные гематофаги (способны питаться кровью, но могут и не питаться вообще), встреча полов и оплодотворение происходит как на растительности, так и на теле хозяина. Самцы клещей родов *Dermacentor*, *Haemaphysalis* – облигатные гематофаги (питание кровью необходимо для сперматогенеза и спаривания); встреча полов и оплодотворение происходит только на теле хозяина.

У *гнездово-норовых клещей* (*Ixodes crenulatus* Koch, 1844; *Ixodes lividus* Koch, 1894; *Ixodes apronophorus* P. Sch., 1924) голодные особи нападают на хозяев-прокормителей в норах

и гнёздах, где и протекает их дальнейшее развитие. Все фазы развития паразитируют на мелких или средних млекопитающих (грызуны, насекомоядные, хищные), или птицах, на человека не нападают. Самцы гнездово-норовых иксодид на хозяевах практически не встречаются, им свойственна афагия (Филиппова, 1977). Встреча полов и оплодотворение происходит в убежищах или гнёздах хозяев.

Пастбищно-норовые клещи (*Ixodes trianguliceps* Bir., 1895) в своём жизненном цикле сочетают элементы пастбищно-подстерегающего и гнездово-норового паразитизма. На человека не нападают, все стадии развития паразитируют на мелких млекопитающих, при этом нападение на хозяев происходит в основном не в гнёздах, а в лесной подстилке – на её поверхности и в ходах. Самцы встречаются на хозяевах только свободно ползающими (осенью они концентрируются преимущественно в гнёздах). Копуляция происходит на хозяине.

Эпидемическое значение в природных очагах арбовирусных инфекций (КЭ, ОГЛ) имеют иксодовые клещи, входящие в экологическую группу пастбищных паразитов, поскольку они способны активно нападать на человека. Гнездово-норовые и пастбищно-норовые клещи имеют важное эпизоотическое значение в природных очагах многих инфекций (в т.ч. арбовирусных – КЭ, ОГЛ, лихорадка Западного Нила – ЛЗН).

Фауна и распространение иксодовых клещей в Западной Сибири

Мировая фауна сем. *Ixodidae* насчитывает более 700 видов в составе 12–13 родов; из них на территории России встречается около 60 видов в составе пяти родов (Балашов, 1998). В Западной Сибири отмечают 12 видов, для которых доказано существование местных популяций (табл. 1.1.1).

Таблица 1.1.1.

Иксодовые клещи Западной Сибири и Алтая: видовой состав и распространение (собственные и литературные данные)

№ п/п	Название видов клещей	Тип паразитизма	Административная территория ¹					
			1	2	3	4	5	6
1.	<i>Ixodes persulcatus</i> P. Sch. 1930 – таёжный клещ	пастбищно-подстерегающий	+	+	+	+	+	+
2.	<i>Ixodes pavlovskyi</i> Rom., 1946	пастбищно-подстерегающий	–	–	+	+	+	+
3.	<i>Ixodes trianguliceps</i> Bir. 1895	смешанный («пастбищно-норный»)	+	+	+	+	+	+
4.	<i>Ixodes apronophorus</i> P. Sch., 1924	гнездово-норный	+	+	+	+	+	+
5.	<i>Ixodes crenulatus</i> Koch, 1844	гнездово-норный	(+)	+	+	+	+	+
6.	<i>Ixodes lividus</i> Koch, 1894	гнездово-норный	+	+	+	+	н.д.	н.д.
7.	<i>Dermacentor reticulatus</i> Fabr., 1894 – луговой клещ	пастбищно-подстерегающий	+	+	+	+	+	+
8.	<i>Dermacentor marginatus</i> Shulz., 1776 – степной клещ	пастбищно-подстерегающий	+	+	+	–	+	+
9.	<i>Dermacentor silvarum</i> Olenov, 1931 – лесостепной клещ	пастбищно-подстерегающий	–	–	+	+	+	+
10.	<i>Dermacentor nuttalli</i> Olenov, 1929	пастбищно-подстерегающий	–	–	–	–	–	+
11.	<i>Haemaphysalis concinna</i> Koch, 1844	пастбищно-подстерегающий	–	–	–	(+)	+	+
12.	<i>Haemaphysalis pospelovaeshtroniae</i> Hoog., 1966	пастбищно-подстерегающий	–	–	–	–	–	+

Примечания: ¹Административные территории: 1 – Тюменская область (включая территорию ХМАО); 2 – Омская область; 3 – Новосибирская область; 4 – Томская область; 5 – Алтайский край; 6 – Республика Алтай; «+» точно установленное обитание вида на территории;

Продолжение таблицы 1.1.2.

Гнездово-норовые и пастбищно-норовые иксодовые клещи										
1.	<i>Ixodes trianguliceps</i>	–	+	+	–	–	–	–	+	–
2.	<i>Ixodes apronophorus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	–
3.	<i>Ixodes crenulatus</i>	–	–	–	–	+**	+**	–	–	+**

Примечания: ¹Ландшафтные зоны (подзоны): СрТ – средняя тайга; ЮТ – южная тайга; ПТ – подтайга; СЛст – северная лесостепь; ЮЛст – южная лесостепь; СТ – степь; ПрЛст – предгорная лесостепь; ГТ – горная тайга; ГС – горная степь; Характер распространения: «–» – вид отсутствует; + – вид присутствует, «+» – фоновый вид; * – единичные находки по поймам или лесополосам (заносы); ** – локальное распределение вида.

Из пастбищных иксодовых клещей наиболее широко распространен таежный клещ *Ixodes persulcatus*, из гнездово-норовых иксодид, связанных исключительно с мелкими млекопитающими и их гнездами – *Ixodes apronophorus*. Строго зональное распространение имеет только один вид – *Ixodes trianguliceps*, имеющий, как указывалось выше, смешанный («пастбищно-норовый») тип паразитизма – он наиболее характерен для лесной зоны Евразии, а в Сибири встречается только в южной тайге и подтайге, где достигает максимального обилия, а также в горной тайге (см. табл. 1.1.2).

Показано, что численность и территориальное распределение иксодовых клещей, экологически связанных с мелкими млекопитающими, определяются не столько видом прокормителя, сколько особенностями среды их обитания – приуроченность отдельных видов клещей к определенным видам хозяев проявляется в большинстве случаев лишь при обитании последних в наиболее характерных для клещей стадиях (Малькова, 2009; Малькова и др., 2012; Якименко и др., 2013).

В целом, в пределах каждой ландшафтной зоны и подзоны равнинной части Западной Сибири, начиная со средней тайги, количество видов иксодовых клещей варьирует от двух до четырех: в средней тайге – два (пастбищный *I. persulcatus* и гнездово-норовый *I. apronophorus*); в южной тайге и подтайге – три (пастбищный *I. persulcatus* и гнездово-норовые *I. apronophorus*

и *I. trianguliceps*); в северной лесостепи – четыре (пастбищные *I. persulcatus*, *D. reticulatus* и *D. marginatus* – последний только по локальным местообитаниям; и гнездово-норовый *I. apronophorus*); в южной лесостепи и степи – три (пастбищные *D. reticulatus* и *D. marginatus*, гнездово-норовый *Ixodes crenulatus*).

На предгорных (правобережное Приобье, предгорья Салаира) и горных (Алтай) территориях в населении иксодид добавляется ряд «восточных» видов – *I. pavlovskyi* (встречается совместно с таежным клещом в горно-лесных районах, но, в отличие от последнего, имеет локальное распространение), *H. concinna* – лесные и лесостепные территории, *D. silvarum* – преимущественно лесостепные станции, наиболее широко распространен на Алтае. На Алтае, кроме того, одним из фоновых видов горных и горно-степных ландшафтов является *D. nuttalli*, встречающийся вплоть до южной и юго-восточной оконечности Республики Алтай; в горно-таежных районах единично отмечается также *H. pospelovaeshtroniae* (Филиппова, 1977; Малькова и др., 2012; Якименко и др., 2013).

Пастбищные клещи

Самый широко распространенный вид иксодовых клещей в Западной Сибири – таежный клещ (*Ixodes persulcatus* P. Sch. 1930). В равнинной части ареал его охватывает среднюю, южную тайгу, подтайгу и северную лесостепь, по поймам крупных рек возможен занос клещей птицами в южную лесостепь и степную зону; в горных районах (Салаирский кряж, Кузнецкий Алатау, Алтай) он населяет предгорную лесостепь и весь горно-лесной пояс вплоть до государственной границы России и до высот менее 2000 м н.у.м. (Нецкий и др., 1966; Иголкин и др., 1972; Иголкин, 1978; Сапегина, 1980; Таежный клещ ..., 1985; Богданов, 2004; Якименко и др., 2013).

Северная граница его ареала в Западной Сибири проходит по северу Томской области и территории Ханты-Мансийского автономного округа Югры (ХМАО-Югры). В современный период отмечены некоторые изменения характера распространения

таёжного клеща и смещение северной границы его ареала – в частности, на территории ХМАО-Югры вид стал широко встречаться вдоль левобережья Оби ниже устья Иртыша (в пределах Ханты-Мансийского и Октябрьского районов), в удаленных от поймы Оби коренных и вторичных местообитаниях (Октябрьский, Советский районы) и на правобережье Оби в пределах Ханты-Мансийского, Сургутского и Нижневартовского районов между устьем р. Иртыш и р. Вах.

Южная граница ареала таёжного клеща в Западной Сибири весьма извилиста и в восточной части региона требует уточнения. На территории Тюменской, Курганской, Омской и Новосибирской областей отмечено некоторое смещение после 2000 г. южных границ распространения вида к югу, что связано, скорее всего, с разными видами антропоического преобразования ландшафта, о чем мы говорили ранее (Малькова и др., 2012; Якименко и др., 2013). На отдельных территориях отмечено изменение качественного состава населения иксодовых клещей, что отразилось на соотношении видов фауны иксодид региона:

1) Ишим-Иртышское междуречье (Ишимская лесостепь): в 1960-х годах в подзоне северной лесостепи Омской области таёжный клещ был малочислен и занимал в населении пастбищных иксодид не более 5–6 %, но уже в 1970–1980-х годах он стал здесь фоновым видом – на его долю в сборах приходилось в среднем около 60 % (Богданов, Шутеев, 1981); такая ситуация в области сохранилась и до настоящего времени – в период с 1992 по 2007 гг. на долю таёжного клеща в населении иксодовых клещей в разные годы приходилось от 30,1 до 100 % (в среднем $67,4 \pm 1,2\%$) при относительной численности от 2,2 до 22,2 экз./км (средняя многолетняя 6,6 экз./км).

2) Обь-Иртышское междуречье (Барабинская лесостепь): в северной лесостепи Новосибирской области вплоть до начала 1990-х годов вид регистрировался единично (численность менее 1,0 экз./км). Однако после 1999–2000 гг. в Усть-Таркском и Венгеровском районах этот вид стал регистрироваться чаще – от 7,1 % (при численности 1,7–3,5 экз./км) до 35,1 % (численность до 10 экз./км) по разным типам лесных местообитаний (в среднем, его доля в населении пастбищных иксодовых клещей

составила 6.2 ± 0.9 % при среднемноголетней относительной численности 4.3 экз./км). По данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области Роспотребнадзора (ранее – областная санитарно-эпидемиологическая станция), с 1999 г. в Венгеровском районе началась официальная регистрация заболеваемости населения клещевым энцефалитом и территория была признана эпидемически неблагополучной.

3) Изменилось место таежного клеща в населении иксодид на локальных территориях в пределах рекреационных зон городов Томска (Романенко, 2005) и Новосибирска (Ливанова и др., 2011; Малькова и др., 2011; 2012; Якименко и др., 2013), где он в настоящее время уступил первенство экологически близкому виду *Ixodes pavlovskiyi*. Однако, такая ситуация наблюдается лишь на незначительных по площади участках правобережного Приобья и долины р. Томь, подвергающихся рекреационной нагрузке. За пределами этих территорий роль таежного клеща в общей структуре населения иксодовых клещей остается на прежнем уровне – на большей части видового ареала в Западной Сибири он абсолютно доминирует среди пастбищных иксодид почти во всех типах пригодных местобитаний северной лесостепи и лесной зоны, а численность его в 10–20 и более раз выше, чем в городских парках и окрестностях гг. Новосибирск и Томск, что подтверждается как литературными (Романенко, 2007; 2009 а; Ливанова и др., 2011), так и нашими данными (Якименко и др., 2013).

Ixodes pavlovskiyi Ром., 1946 известен только в России и Восточном Казахстане. В России ареал состоит из двух частей: западная включает юго-восточную часть Западной Сибири и Южную Сибирь, восточная – Дальний Восток. До конца 1970-х годов самые западные точки ареала *I. pavlovskiyi* отмечались на Алтае (наиболее западная точка находки – г. Рубцовск Алтайского края; $51^{\circ}32'$ с.ш.) и примыкающих к нему горах Южной Сибири, отрогах Салаирского Кряжа и Кузнецкого Алатау (Сапегина, Равкин, 1969; Сапегина, 1972; Филиппова и др., 1970; Филиппова, 1977; Чигирик и др., 1972; 1974).

В настоящее время границы ареала *I. pavlovskiyi* в Западной Сибири существенно расширились, в результате чего он

стал фоновым (наравне с *I. persulcatus*) в населении иксодовых клещей некоторых территорий Томской и Новосибирской областей (Романенко, 2004; 2009 а, б; Ливанова и др., 2011; Малькова и др., 2011; 2012; Якименко и др., 2013).

Луговой клещ (*Dermacentor reticulatus* Fabr., 1894). По данным И.Л. Кулик и Н.С. Винокуровой (1983а), северная граница ареала лугового клеща на Урале и в Западной Сибири ранее (1950–1960-е годы) практически совпадала с северной границей берёзово-осиновых лесов (подтайги). Зонами оптимума его ареала считались подтайга и северная лесостепь, по поймам рек он проникал в южную тайгу; в степной зоне регистрировался единично (Беззубова, 1965; Нецкий и др., 1966; Столбов и др., 1966; Давыдова, Лукин, 1969; Белан и др., 1970; Алифанов и др., 1970; Алифанов, Нецкий, 1954; Богданов, 1968; 2003). В восточной части ареала распространение *D. reticulatus* в эти же годы совпадало с распространением луговых степей и берёзово-осиновых лесов в предгорьях Алтая, Салаирского кряжа и Кузнецкого Алатау. В Алтайском крае вид был широко распространён в западной, юго-западной и центральной степи, в лесостепной зоне, а также западном и северо-восточном Алтае (Коклягина, 1963; 1967; Дроздова, 1967).

Начиная с конца 1970-х гг. характер распространения лугового клеща в равнинной части Западной Сибири существенно изменился и эти изменения сохранились до настоящего времени – границы распространения *D. reticulatus* сместились на 100–200 км к югу от прежних мест обитания. И только с 2016 г. было отмечено появление вида в подтаежной зоне Омской области в границах 60-х годов прошлого века. Изменилась и его роль в населении пастбищных иксодид лесостепной и степной зон, о чем мы писали ранее (Якименко и др., 2013).

Степной клещ (*Dermacentor marginatus* Shulz., 1776) ранее был наиболее характерен для лесостепной (особенно для южных районов) и степной зон Западной Сибири, с востока его распространение было ограничено предгорьями Салаира и Алтаем (Столбов и др., 1966; Белан и др., 1970; Кулик, Винокурова, 1982). Современная северная граница ареала степного клеща,

а также характер его распространения в равнинной части Западной Сибири несколько видоизменилась – в северной лесостепи он распространен мозаично, преимущественно на локальных луго-полевых участках антропогенного происхождения; в степной зоне стал редок – в отдельные годы локальные эфемерные группировки его регистрируются в незначительных по площади коренных биоценозах степи и во вторичных степных ландшафтах, сформировавшихся на местах деятельности человека (агроценозах). Устойчивые сообщества степного клеща в степной зоне сохранились лишь в окрестностях населённых пунктов в местах выпаса скота, а также на участках целинной степи Северного Казахстана. Лишь в южной лесостепи характер его распространения практически не изменился (Якименко и др., 2013).

Лесостепной клещ (*Dermacentor silvarum* Olenov, 1931). По данным И.Л. Кулик и Н.С. Винокуровой (1983 б), ареал лесостепного клеща в России разорван и представлен несколькими участками: двумя большими (прибайкальско-дальневосточным и западносибирским) и рядом более мелких, изолированных (на территории Тывы, Бурятии, Читинской области и Республики Саха-Якутия). В Западной Сибири этот вид отмечался преимущественно к востоку от Оби, отдельные локальные популяции его были приурочены к лесостепным предгорьям Салаира, Алтая, Кузнецкой котловине (Филиппова, 1997). На север встречен по левобережью Оби примерно до широты г. Томска (Иголкин, 1978).

Современный характер распространения *D. silvarum* в регионе требует уточнения. По нашим данным, он локально встречается в предгорной лесостепи правобережного Приобья (Искитимский и Сузуский районы Новосибирской области, Беловский район Кемеровской области) и единично – в «боровой степи» на юго-западе Алтайского края (Угловский район), практически повсеместно распространен в Республике Алтай (кроме Кош-Агачского района) и горных территориях Алтайского края.

***Dermacentor nuttalli* Olenov, 1929** – основная часть видового ареала расположена в Центральной Азии (Колонин, 1984),

на территории России встречается лишь в ее юго-восточной части на изолированных территориях (Алтай, долина Енисея от верховьев до широты Красноярска и Канска, Забайкалье), на которых не имеет сплошного ареала, а встречается в виде «пятен» высокой численности (Филиппова, 1997). В Западной Сибири *D. nuttalli* известен из Ачинской лесостепи, отмечен в ряде остепнённых котловин Горного Алтая, на плоскогорьях, а также на остепненных склонах окружающих горных хребтов (Коклягина, 1967).

Современные находки вида в регионе известны только на территории Республики Алтай, причем, это единственный вид иксодид, который отмечается вплоть до южной оконечности Кош-Агачского района (Щучинова, Малькова, 2012; Природно-очаговые инфекции ..., 2012; Якименко и др., 2013).

***Haemaphysalis concinna* Koch, 1844** – самый северный представитель рода *Haemaphysalis*, основная масса видов которого обитает во влажных тропиках и субтропиках (Колонин, 1978; Lebedeva, Korenberg, 1981). В Западной Сибири встречается лишь на юге и юго-востоке региона, не образуя сплошного ареала. Ранее здесь выделяли три основных территории, где клещи этого вида достигали значительной численности и составляли заметный процент в иксодовой фауне (Попов, 1962; Коклягина, 1963; 1967; Чигирик, Плешивцева-Ерошкина, 1969; Горбунов, 1976; Богданов, 2005): предгорная лесостепь Алтайского края (между Приобскими борами на западе, тайгой Салаира на востоке и тайгой Северного Алтая на юге); южная часть лесостепи Кузнецкой котловины (Томь-Кондомский предгорный район) и так называемая «боровая степь» на крайнем юге региона (на стыке границ Павлодарской и Семипалатинской областей Республики Казахстан). В современный период обитание *H. concinna* достоверно установлено на юге Алтайского края и в Республике Алтай (Щучинова, Малькова, 2012; Природно-очаговые инфекции ..., 2012; Якименко и др., 2013). Есть также данные о единичных находках *H. concinna* в 2008 г. на окраине г. Томска (Романенко, 2009а; Иванова, 2009), однако возможно, что это занос клеща с птицами.

Гнездово-норовые и пастбищно-норовые клещи

***Ixodes crenulatus* Koch, 1844.** В Западной Сибири встречается в основном в южной лесостепи и степи, к югу от 55⁰ с.ш.; южная граница проходит далеко за пределами региона. Зона оптимума ареала – степная зона. Известен на территории Томской (очевидно – занос), Новосибирской и Омской областей, и на Алтае (Якименко и др., 2013).

***Ixodes lividus* Koch, 1894** (ранее был известен как *Ixodes plumbeus* Leach, 1815) – специфический паразит береговой ласточки (*Riparia riparia* L.). В Западной Сибири зарегистрирован в Томской, Новосибирской, Омской и Тюменской областях; на север доходит до линии Ханты-Мансийск – Напас (Фёдоров Ю.В., 1958; Столбов, 1966; Столбов и др., 1966; Давыдова, Лукин, 1969; Якименко и др., 1991). Есть основания предполагать обитание *I. lividus* в колониях ласточек по Тоболу и его притокам на территории Курганской области (Якименко и др., 2013). Встречается в колониях ласточек в Кемеровской области и Республике Алтай (Курайская степь).

***Ixodes trianguliceps* Bir., 1895** наиболее характерен для лесной зоны Евразии, в Западной Сибири встречается только в южной тайге, где достигает максимального обилия, и подтайге (Малюшина, 1966; 1967). В современный период локально-мозаичный характер распространения вида сохраняется – он по-прежнему встречается лишь в равнинной подтайге и южной тайге Западной Сибири (Якименко и др., 2002; 2013), а также, вероятно – в горной тайге Алтая. На сегодняшний день не установлено обитания клещей этого вида на северо-востоке Тюменской области (Уватский район), а также по восточным и северным берегам Большого Васюганского болота на территории Томской области (Якименко и др., 2013).

Экология эпидемически значимых видов иксодовых клещей Западной Сибири (пастбищные клещи)

Таежный клещ. Наиболее благоприятными условиями для распространения таёжного клеща в равнинной части Западной Сибири характеризуются южная тайга и подтайга

(особенно – смешанные средневозрастные леса), в горной части региона – сосново-берёзовые леса и низкогорная черневая тайга (Нецкий и др., 1966; Иголкин и др., 1972; Иголкин, 1978; Сапегина, 1980; Таёжный клещ ..., 1985; Богданов, 2004; Якименко и др., 2013). Круг хозяев-прокормителей таёжного клеща обширен как в систематическом, так и в экологическом отношении. В целом по ареалу он насчитывает около 200 видов млекопитающих и более 120 видов птиц, случайными хозяевами могут служить рептилии и амфибии (Филиппова, 1977; Таёжный клещ ..., 1985). В Западной Сибири, в частности, найден на 174 видах хозяев, среди которых 64 вида млекопитающих, 105 видов птиц, один вид амфибий и четыре вида рептилий (Богданов, 2004).

Сроки сезонной активности таежного клеща в природе существенно варьируют в зависимости от погодных условий и могут отличаться в различных ландшафтах. Период максимальной численности имаго в лесной зоне приходится обычно на конец июня (иногда смещается на начало-середину июня), в равнинной лесостепи Западной Сибири – на вторую-третью декады мая. В предгорной лесостепи Приобья сезонная его активизация происходит обычно в первой-второй декадах апреля, а пик сезонной активности приходится на конец второй – третью декаду мая; на Алтае клещи активизируются в апреле, в отдельные годы – в марте и даже конце февраля, пик сезонной активности обычно приходится на середину мая-первую декаду июня.

Имаго питаются обычно на крупных и средних диких млекопитающих (копытных, хищных, зайцеобразных), домашних и сельскохозяйственных животных, реже – на птицах, гнездящихся и (или) собирающих корм на земле или в нижних ярусах кустарников. Самки питаются 7–10, реже до 14–22 дней; самцы являются факультативными гематофагами и при попадании на тело прокормителя могут присасываться и периодически поглощать свежую кровь (участвуя, наряду с самками, в передаче возбудителей). Голодные особи могут жить два-три года (Якименко и др., 2013).

Выплод личинок из яиц происходит обычно к концу лета, а активизируются они следующей весной, как правило – с начала мая (в северной лесостепи при благоприятных условиях –

в последней декаде апреля). Однако анализ многолетних (28 лет) изменений относительной численности личинок и нимф таёжного клеща на территории северной лесостепи Омской области свидетельствует о том, что это далеко не всегда так. Было показано, что в течение одного весенне-летнего сезона большая часть личинок не только выплывалась из яиц, но и активизировалась, напитывалась и линяла в нимф, которые также успевали в этот же сезон активизироваться и нападать на своих прокормителей – мелких лесных грызунов и насекомоядных (Макенов и др., 2014). Период максимальной активности личинок таёжного клеща длится обычно с начала июня до начала июля.

Нимфы либо активизируются в сезон рождения (что, как указывалось выше, мы регулярно наблюдали в северной лесостепи Омской области), либо уходят на зимовку в голодном состоянии и активизируются лишь на следующий год (обычно с середины мая по начало сентября). Период максимальной активности нимф приходится как правило на июль. Голодные личинки и нимфы, как и имаго, могут жить до двух лет.

В целом, полный цикл развития таёжного клеща в условиях Западной Сибири занимает три-четыре года, при этом общая продолжительность периода активности *I. persulcatus* в условиях Западной Сибири варьирует от 154 до 185 дней (Богданов, 2004; Якименко и др., 2013).

Ixodes pavlovskyi в своем распространении наиболее приурочен к черневой тайге, лесостепным предгорьям с осиновыми и берёзово-осиновыми колками; зона доминирования приходится на низкогорные таёжные леса и предгорья Алтая (Филиппова, 1977; Богданов, 2004).

Круг хозяев *I. pavlovskyi* обширен; в Западной Сибири, в частности, он насчитывает 41 вид, среди которых 22 вида птиц и 19 видов млекопитающих. У имаго отчётливо выражена трофическая специализация к птицам, на млекопитающих они встречаются крайне редко. Преимагинальные фазы (личинки и нимфы) паразитируют как на птицах, так и на млекопитающих (мелких и средних), но нимфы отличаются большей орнитофильностью (Сапегина и др., 1970).

Сезонный ход активности *I. pavlovskiyi* сходен с таковым у таёжного клеща: пик численности имаго – вторая-третья декады мая, личинок и нимф – июнь (на млекопитающих) – июль (на птицах). Преимагинальные фазы обоих видов в зоне совместного обитания (правобережное Приобье, юго-западная часть Алтайского края и северо-восточный Алтай) могут встречаться на хозяевах одновременно и нередко совместно (Филиппова, 1977; Богданов, 2004). По данным Н.Ф. Сапегинной (1972), полный цикл развития *I. pavlovskiyi* в условиях Западной Сибири составляет 319–392 дня.

Луговой клещ *Dermacentor reticulatus*. В северной лесостепи биотопически наиболее приурочен к межколочным лугам и опушкам березовых колков и ленточных лесов, изредка населяет внутриколочные пространства; в южной лесостепи распространен практически повсеместно по опушкам березовых колков, обочинам дорог и луговинам, в степной зоне тяготеет к разреженным березовым колкам и лесополосам; в лесостепи правобережного Приобья – приурочен преимущественно к опушкам смешанных и лиственных лесов, полянам и просекам; в предгорной лесостепи – к долинам рек и остепнённым участкам (Якименко и др., 2013).

Хозяевами-прокормителями лугового клеща на всех фазах его развития являются преимущественно млекопитающие (в Западной Сибири – 55 видов); личинок и нимф прокармливают мелкие млекопитающие, имаго – крупные, в основном копытные (домашние и дикие). Находки на птицах очень редки и носят случайный характер.

Луговой клещ активизируется обычно ранней весной (апрель-май). Максимальная численность имаго при ранней и теплой весне регистрируется в конце апреля, при затяжной весне – в середине или конце мая. В начале июня численность имаго резко падает, в июле они практически не встречаются, находясь в состоянии летней имагинальной диапаузы. В середине августа начинается второй подъём численности с максимумом в разные годы в конце августа – начале сентября, отдельные клещи встречаются до середины октября (Богданов, 2003; Якименко и др., 2013).

Имаго зимуют в подстилке, как правило, голодными, но для лугового клеща характерна также зимовка на теле крупных домашних и диких млекопитающих (коровы, лошади, зайцы, косули) в голодном или слегка напитавшемся состоянии. Весной они быстро докармливаются и дают кладки в более ранние сроки, чем клещи, зимовавшие в голодном состоянии в подстилке. Для самцов клещей *p. Dermacentor* питание кровью обязательно для завершения сперматогенеза, при этом количество крови значительно меньше, чем поглощаемое самкой, что, однако, не является препятствием для эффективной передачи возбудителей трансмиссивных инфекций при кровососании. Напитавшаяся самка лугового клеща откладывает до 6000 яиц.

Личинки активны с конца апреля до начала октября; в массе появляются в июне (максимум их активности приходится на третью декаду июня – вторую декаду августа). Кормятся обычно 3–4 дня и быстро линяют на нимф. Нимфы активны с начала июля до середины сентября; максимум их активности отмечается в июле (третья декада июля – первая декада августа), сроки прокормления – те же, что и у личинок. Голодные личинки и нимфы зимой погибают (сроки жизни голодных особей 25–50 суток). В целом, весь цикл развития лугового клеща завершается в течение одного весенне-летнего сезона; в условиях Западной Сибири он занимает 110–115 суток (Богданов, 2003; Якименко и др., 2013).

Степной клещ *Dermacentor marginatus*. По сравнению с луговым клещом, степной клещ более адаптирован к обитанию в условиях дефицита влаги и в местах совместного обитания с луговым занимает более сухие и открытые станции: в северной части ареала – суходольные луга, южнее – опушки колков, мелкие разреженные колки, хорошо прогреваемые межколочные поляны, сохранившиеся участки ковыльно-разнотравной степи; в поймах рек – возвышенные участки, в предгорьях Алтая – южные склоны гор и поймы рек (Богданов, 2003).

Круг хозяев степного клеща в Западной Сибири включает млекопитающих 40 видов. Имаго прокармливаются, в основном,

на сельскохозяйственных животных и зайцах, личинки и нимфы – на мышевидных грызунах; на позвоночных из других систематических групп (птицы, ящерицы) появляются редко (Филиппова, 1997; Богданов, 2003).

Жизненная схема степного и лугового клещей в целом схожа, но степной клещ активизируется обычно раньше – часто уже в середине апреля бывает максимум активности имаго этого вида. Продолжительность жизненного цикла степного клеща в условиях Западной Сибири составляет от 49 до 128 суток. Осенний пик численности, в отличие от лугового клеща, выражен слабо и проявляется не каждый год. Зимовка имаго на теле крупных животных у степного клеща отмечается чаще, чем у лугового. Активность личинок наблюдается с начала июня до начала августа; максимум – первая-вторая декады июля; активность нимф – с конца июня до начала сентября с максимумом во второй половине июля (вторая-третья декады: Якименко и др., 2013).

Лесостепной клещ *Dermacentor silvarum*. В отличие от лугового и степного клещей, биотопически тяготеет к лесным разреженным колкам на склонах, сухим участкам пойм, низкогорным степям. Как и все клещи рода *Dermacentor*, паразитирует преимущественно на млекопитающих. В Западной Сибири зарегистрирован на 44 видах: хозяевами имаго служат крупные дикие и домашние млекопитающие, прокормителями преимагинальных фаз развития являются мышевидные грызуны, землеройки и бурундуки; роль птиц незначительна (Филиппова, 1997; Богданов, 2003).

Ход сезонной активности *D. silvarum* схож с таковым у лугового и степного клещей, численность его достаточно стабильна. Нигде не доминирует, в отдельные сезоны его весенняя численность на локальных участках может достигать 45.8 экз./км (Богданов, 2003).

***Dermacentor nuttalli*.** В отличие от других сибирских представителей рода, клещи этого вида приурочены к малоснежным, сухим степям Центральной Азии и высокогорий Алтая, Саян и некоторых других горных систем. Они населяют открытые участки, покрытые редкой и низкой травой, зачастую

с каменистой, потрескавшейся почвой, со щебнистыми россыпями; часто концентрируются вблизи мест прогона и пастьбы скота и у поселений длиннохвостого суслика (*Spermophyllus undulatus* Pall.) – основного прокормителя преимагинальных стадий. При чередовании остепнённых и лесистых участков (Ачинская лесостепь, склоны гор разной экспозиции на Алтае) станции *D. nuttalli* находятся в непосредственной близости от станций таежного клеща (Меринов, 1964). Круг хозяев включает 29 видов млекопитающих; имаго паразитируют на диких и домашних копытных, реже на хищниках и зайцах, преимагинальные стадии – на длиннохвостом суслике, алтайской (*Ochotona altaica* Pall.) и монгольской (*Ochotona pallasi* Gray) пищухах, реже на мышевидных грызунах (в этом отличие от других представителей рода *Dermacentor*, для которых основными прокормителями личинок и нимф служат мелкие мышевидные грызуны).

Имаго *D. nuttalli* встречаются в природе с момента схода снежного покрова, причем, на склонах южной экспозиции они могут появиться тогда, когда на других склонах еще залегает нормальный снежный покров. Максимальной численности достигают к середине апреля - началу мая, но сроки эти сильно зависят от особенностей погоды конкретного сезона. Клещи подстерегают хозяев, сидя на отдельных длинных травинках, часто далеко отстоящих друг от друга, на высоте 10–25 см над почвой, зачастую на такой травинке сидит несколько (до 10 и более) особей клещей. Клещи, не встретившие хозяина, уходят на зимовку; осенний пик численности, характерный для других сибирских представителей рода, у *D. nuttalli* не выражен. Характерной чертой экологии *D. nuttalli* служит способность имаго зимовать на теле крупных копытных в голодном или слегка напившемся состоянии (Богданов, 2001). На участках Чуйской степи на юго-востоке Республики Алтай (Кош-Агачский район) отмечается очень высокая концентрация имаго *D. nuttalli* на куртинах травы в окрестностях поселений монгольской пищухи.

Максимум личинок на хозяевах отмечается обычно в начале июля, нимф – в начале августа. Голодные личинки

и нимфы часто концентрируются у входов нор сусликов и некоторых других грызунов, возможно, какая-то часть их в этих норах перезимовывает.

Haemaphysalis concinna. Биотопически клещи этого вида наиболее приурочены к увлажненным местообитаниям: в предгорной лесостепи Алтайского края *H. concinna* обитает на лугах, в зарослях кустарников, островных лесах среди лугов и полей; в предгорьях Салаира и северо-восточного Алтая – по «сограм» (болотистым долинам мелких речек, поросших густым кустарником и узкими полосами леса) (Якименко и др., 2013).

Круг хозяев *H. concinna* в Западной Сибири представлен 89 видами – 43 вида птиц, 45 видов млекопитающих, 1 вид рептилий. Как и для других представителей рода *Haemaphysalis*, для этого вида характерно нападение на крупных млекопитающих и людей не только имаго, но и нимф, и даже личинок (Попов, 1962; Сапегина, 1972).

Имаго *H. concinna* встречаются в природе со второй декады апреля по вторую декаду июля, максимальной численности достигают в конце мая, второй пик численности – в середине-конце июня (Якименко и др., 2013). Клещи теплолюбивы и гигрофильны: наибольшую активность проявляют при температуре воздуха от +23⁰С до +40⁰С; влажность в местах обитания составляет 91–95 %. В подстерегающей позе часто держатся на сухих прошлогодних высоких стеблях зонтичных растений, которые торчат выше уровня свежей травы на 60–70 см. Нередко на таком стебле бывает сосредоточено по несколько самок и самцов *H. concinna* (Богданов, 2005).

Личинки и нимфы встречаются в природе с конца мая до конца августа, максимального обилия достигают в конце июня. Преимагинальные стадии столь же термо- и гигрофильны, как и имаго. Зимуют все стадии развития. Зимовка, как правило, происходит в подстилке и лишь самцы, иногда в большом количестве, зимуют на копытных. В целом, для *H. concinna* характерен двух-трехлетний цикл развития с одной диапаузой (на стадии личинки или нимфы), значительно реже развитие идет с двумя диапаузами на обеих преимагинальных стадиях (Богданов, 2005; Якименко и др., 2013).

**Экология иксодовых клещей,
имеющих только эпизоотическое значение
(гнездово-норовые и пастбищно-норовые клещи)**

Ixodes apronophorus. Хозяевами-прокормителями *I. apronophorus* служат грызуны, насекомоядные и мелкие хищные млекопитающие – обитатели околородных биотопов, редко птицы. В целом по ареалу зарегистрировано более 40 видов хозяев. Основным хозяином в условиях Западной Сибири долгое время считалась водяная полевка *Arvicola amphibius* L. (*A. terrestris* L.) – в ее гнездах были отмечены все фазы жизненного цикла *I. apronophorus* (Попов, 1962; Филиппова, 1977).

Однако в современных условиях ведущую роль в поддержании существования клещей этого вида играют, помимо водяной полевки, разные виды мелких млекопитающих водно-болотных биотопов – полевка-экономка (*Microtus oeconomus* Pall.), темная полевка (*Microtus agrestis* L.), бурозубки (р. *Sorex*), поскольку на большей части территории численность водяной полевки не высока, и подвержена резким колебаниям.

По данным В.И. Алифанова и Д.И. Иванова (Алифанов, 1965; Иванов, 1971; Иванов и др., 1971) самки и нимфы *I. apronophorus* в Омской области активны с конца апреля до декабря включительно, личинки – с мая до декабря. В течение жизненного цикла *I. apronophorus* авторы отмечали три пика численности:

1) в конце мая-начале июня – максимальный; связан с нападением перезимовавших клещей на водяную полевку, вернувшуюся с мест зимовок на берега озер и болота;

2) в конце июля-начале августа – несколько меньший; связан с нападением личинок, вылупившихся из кладок питавшихся весной самок, а также нимф и самок, перелинявших за счет весеннего питания предшествующих фаз;

3) в конце августа-сентябре – самый малый; связан с нападением личинок, отродившихся после питания самок в мае-июне, и более старших фаз, перелинявших за счет питания, давшего второй пик.

Максимум активности имаго приходится на конец мая – начало июня; личинок и нимф – конец июля. Зимовать может

любая фаза развития, в основном в голодном состоянии. Полный цикл развития происходит за 3–4 года (Иванов, 1971, 1975).

Ixodes crenulatus. В азиатской части ареала основными хозяевами-прокормителями служат сурки рода *Marmota* (с преобладанием серого сурка *Marmota baibacina* Kastschenko) и обитающие в покинутых сурчинах хищники – лисица (*Vulpes vulpes* L.), корсак (*Vulpes corsac* L.), барсук (*Meles meles* L.), степной хорь (*Mustela evermanni* Less.). Преимагинальные фазы развития единично отмечались на сусликах и мышевидных грызунах. В направлении с востока ареала на запад происходит постепенная смена таксономических групп хозяев *I. crenulatus*, связанная не только с естественной географической заменой одних таксонов другими, но и, в значительной мере, с влиянием деятельности человека (Филиппова, 2011): в тех регионах, где серый сурок был истреблен (степи Крыма, Кавказа, Украины) отмечается полный переход *I. crenulatus* на хищных (преимущественно зимоспящих) млекопитающих, а в регионах, где прогрессирует сокращение численности диких хищных млекопитающих (Западная Европа), отмечено паразитирование клещей этого вида на видах-интродуцентах (например, енот-полоскун *Procyon lotor* L. в Восточной Европе), или на домашней собаке (*Canis familiaris* L.).

При паразитировании на сурках сезонные ритмы развития *I. crenulatus* и хозяина согласованы с учетом того, что сурки – зимоспящие животные: каждая фаза жизненного цикла клеща паразитирует на особях определенной возрастной группы хозяина. В оптимальных условиях паразитирования на сером сурке цикл развития *I. crenulatus* занимает три года. Сезон паразитирования клещей этого вида на хищных млекопитающих более длительный, и строгой синхронизации циклов активности паразита и хозяина не наблюдается (Филиппова, 2011). В условиях Западной Сибири цикл развития *I. crenulatus* составляет 2–4 года (Богданов, 2004).

Как и у всех норных паразитов, нападение *I. crenulatus* на хозяев, кормление, развитие и зимовка происходят в норах, отличающихся большой глубиной и стабильным микроклиматом. Личинки способны к длительному голоданию, что дает им возможность долго выживать в покинутых норах, дожидаясь

заселения их новыми хозяевами. Все фазы развития активны с апреля-мая по сентябрь, пик численности имаго приходится обычно на третью декаду апреля – первую декаду мая, личинок – на конец июня, нимф – на конец июля (Богданов, 2000; 2004; Богданов и др., 2010; Якименко и др., 2013).

Ixodes lividus. Специфический паразит гнезд береговой ласточки (*Riparia riparia* L.); единственный вид среди иксодид, для которого характерна моногостальность (Глащинская-Бабенко, 1956; Якименко и др., 1991). Имеет одногодичный цикл развития, который полностью проходит в гнезде.

Адаптированной к зимовке фазой развития является личинка. После прилёта береговых ласточек весной личинки напитываются на взрослых птицах, а накануне вылупления птенцов они линяют на нимф. Нимфы питаются на слепых неоперенных птенцах, затем линяют на имаго. Самки *I. lividus* кормятся на оперенных птенцах и взрослых птицах, самцы, как у всех гнездово-норовых паразитов, не питаются. Развитие яиц и появление личинок происходит уже после вылета слетков, и зависит от температурного режима в гнезде (Богданов и др., 2010, Якименко и др., 2013).

***Ixodes trianguliceps* Bir., 1895**. Все стадии развития паразитируют на мелких млекопитающих, при этом нападение на хозяев происходит в основном не в гнездах, а в лесной подстилке – на ее поверхности и в ходах. Личинки и нимфы *I. trianguliceps* паразитируют, преимущественно, на бурозубках и лесных полевках, передвигающихся в почве и подстилке; взрослые клещи чаще всего встречаются на полевках и мышах, передвигающихся по поверхности почвы (Филиппова, 2011; Беспятова, Бугмырин, 2012).

Самцы не питаются и встречаются на хозяевах только свободно ползающими (осенью они концентрируются преимущественно в гнёздах). Имаго встречаются с мая по октябрь, пик их численности приходится на вторую декаду мая – вторую декаду июня. Преимагинальные фазы могут быть активны круглогодично, максимум активности – конец июля-август (Сапегина, 1962; Суворова, 1966; Филиппова, 1977; Богданов, 2004); в Омской области личинок и нимф *I. trianguliceps* наблюдали с марта по октябрь, в т.ч. и после установления снегового покрова (Богданов и др., 2010; Якименко и др., 2013).

1.1.2. Гамазовые клещи

По данным литературы (Давыдова, Никольский, 1986), в целом для Западной Сибири известен список из 284 видов гамазовых клещей, в т.ч. 179 видов – для равнинной ее части (128 свободноживущих и 51 – паразитических). Ряд видов свободноживущих клещей, относящихся к родам *Parasitus*, *Poecilochirus* (сем. Parasitidae), *Ameroseius* (сем. Ameroseiidae), *Lasioseius*, *Arctoseius*, *Melichares* (сем. Aceoseidae), *Antennoseius* (сем. Antennoseiidae), *Cyrtolaelaps*, *Halolaelaps* (сем. Rhodacaridae), *Macrocheles* (сем. Macrochelidae), *Hypoaspis* (сем. Laelaptidae) – всего 45 видов, а также представители сем. Zerconidae (9 видов) и Uropodidae (11 видов) в этом списке не указаны, но данные по ним есть у А.П. Зуевского (1981) и в наших материалах. Из паразитических видов не указаны *Androlaelaps dogeli*, *Haemogamasus ivanovi*, *Hirstionyssus transiliensis*, *Ornityonyssus silviarum* и *Dermanyssus gallinae* (последние два связаны преимущественно с птицами, но изредка могут встречаться и на грызунах). В целом, по обобщенным литературным (Давыдова, 1976; Давыдова, Богданов, 1978; Давыдова, Никольский, 1986; Зуевский, 1981; Богданов, 1990) и собственным данным, для равнинной части Западной Сибири можно считать установленным обитание 249 видов гамазовых и близких к ним клещей, в т.ч. 193 вида свободноживущих и 56 паразитических.

Из зарегистрированных нами 179 видов гамазовых клещей по общему количеству видов как на зверьках (97 видов; $72,4 \pm 3,9$ %), так и в гнездах (117 видов; $81,3 \pm 3,2$ %) преобладали свободноживущие клещи, однако по количеству особей доминировали паразитические клещи (от $67,3 \pm 0,2$ % в гнездах до $90,3 \pm 0,1$ % – на зверьках). Лишь отдельные виды свободноживущих клещей достигали высокого обилия на зверьках (*Parasitus* (E.) *oudemansi*, *P.* (V.) *remberti*, *Proctolaelaps pygmaeus*), что объясняется их адаптацией к форезии на млекопитающих, основанной на формировании не трофических (как у гематофагов), а устойчивых форических связей (Беклемишев, 1970; Давыдова, Никольский, 1986).

Паразитические гамазовые клещи, отмеченные нами на зверьках и в их гнездах (42 вида), были представлены двумя основными экологическими группами, отличающимися по типу питания и характеру связи с хозяевами или их убежищами – эпизойные и гнездово-норовые клещи.

Группа эпизойных клещей (сем. Laelaptidae: pp. *Laelaps*, *Hyperlaelaps*) представлена широко распространенными поли- и олигогостальными видами (*Laelaps clethrionomydis*, *L. hilaris*, *Hyperlaelaps arvalis*), а также рядом узко специализированных видов, среди которых специфические паразиты водяной полевки (*L. muris* и *Hyper. amphibius*), ондатры (*L. multispinosus*), полевой мыши (*L. pavlovskiyi*), мыши-малютки (*L. micromydis*), а также встречающиеся только в тундровой зоне *L. semitectus* (паразит копытного лемминга), *L. lemmi* (паразит сибирского лемминга) и *L. alaskensis* (преимущественно – полевки Миддендорфа). Моногостальные эпизои-гематофаги, занимая иногда в общих сборах доминирующее положение, обычно не достигают высокого суммарного обилия в связи с их узкой специализацией к паразитированию на одном виде хозяина. Как правило, они очень обильны на «своих» хозяевах и крайне малочисленны на других видах – закономерность, известная для моногостальных паразитов различных систематических групп (Догель, 1947). Особенно это характерно для *Laelaps multispinosus*, *L. muris* и *Hyperlaelaps amphibius*.

Вторая экологическая группа представлена гнездово-норовыми паразитами. По типу питания это облигатные (исключительные и неисключительные) и факультативные гематофаги, некоторые – с элементами хищничества и сапрофагии (pp. *Haemogamasus*, *Hirstionyssus*, *Eulaelaps*, *Androlaelaps*); встречаются как в гнездах, так и на зверьках. Основу этой группы составляют два широко распространенных эвригостальных вида – *Haemogamasus ambulans* и *Hirstionyssus isabellinus*, которые сочетают в своей жизненной схеме признаки гнездового паразитизма и эпизойности (Земская, 1969; Тагильцев и др., 1990)

Из всего набора видов паразитических клещей во всех ландшафтных зонах Западно-Сибирской равнины отмечены девять: эпизойные *Laelaps clethrionomydis*, *L. hilaris* и *Hyperlaelaps arvalis*, гнездово-норовые *Androlaelaps casalis*, *Eulaelaps*

stabularis и *Haemogamasus nidiformes* и гнездово-норовые с элементами эпизойности в жизненной схеме *Haemogamasus ambulans*, *Hirstionyssus isabellinus* и *Hi. eusoricis*.

1) *Laelaps clethrionomydis*: вид бореальной европейско-сибирской фауны. Это единственный представитель рода *Laelaps* в Западной Сибири, для которого отмечены две филогенетически отдаленные группы типичных хозяев – лесные (род *Myodes*) и серые (род *Microtus*) полевки (Земская 1973; Давыдова, Никольский, 1986). Другие виды рода специализированы либо к одному виду хозяина (*L. muris* – водяная полевка; *L. multispinosus* – ондатра, *L. micromydis* – мышь-малютка), либо к группам родственных видов (*L. pavlovskyi* – к полевым и лесным мышам, *L. hilaris* – к серым полевым). С продвижением с севера на юг численность *L. clethrionomydis* и общая пораженность им зверьков меняются незначительно, повсеместно в эктопаразитоценозах мелких млекопитающих он является либо фоновым (IV–V баллов обилия; тундры Ямала, средняя тайга и подтайга), либо обычным (III балла; южная тайга и северная лесостепь) видом. Однако структура его паразито-хозяинных отношений в широтном направлении менялась за счет зональной динамики спектра основных хозяев. В северных и южных субарктических тундрах Ямала основным хозяином *L. clethrionomydis* была узкочерепная полевка (подвид *Microtus gregalis major*), в лесной зоне он связан преимущественно с лесными полевыми, в северной лесостепи паразитирует на красной, рыжей и узкочерепной (подвид *M. g. gregalis*) полевыми, но максимальную гостальную приуроченность проявляет к последней, в южной лесостепи и степи – исключительно на узкочерепной полевке. Ранее высказывались предположения о том, что *L. clethrionomydis* является сборным видом, состоящим, как минимум, из двух видов-двойников: один из них специализирован к обитанию на лесных полевых, второй – на серых полевых (Богданов, 1987). Позже было показано, что клещи *L. clethrionomydis*, паразитирующие на полевых рр. *Microtus* и *Myodes*, достоверно различаются по ряду морфометрических признаков, что может указывать на их принадлежность к разным морфологически близким видам или подвидам (Коралло, Богданов, 2002; Коралло, 2004). Поскольку вопрос о подвиговой дифференциации *L. clethrionomydis* на сегодняшний

день окончательно не решен, мы, исходя из особенностей распределения *L. clethrionomydis* на типичных хозяевах в условиях различных ландшафтных зон и подзон Западной Сибири, считаем возможным говорить о наличии, как минимум, двух его морфо-экологических форм – форма «gregalis», приуроченная в своем распространении к узкочерепной полевке, и форма «myodes», более тесно связанная с лесными полевыми.

2) *Laelaps hilaris*: по характеру распространения – западный палеаркт (Зуевский, 1981); встречается на широком круге хозяев, но в большей степени связан с серыми полевыми, а среди них – преимущественно с полевкой-экономкой. В гнездах встречается эпизодически и единично. Отмечено достоверное повышение его доли в населении гамазовых клещей в направлении с севера на юг ($p < 0,001$). Наиболее высокие показатели его обилия на зверьках отмечены в подтайге, южной лесостепи и степи, где он входит в группу многочисленных видов, особенно – на полевке-экономке.

3) *Hyperlaelaps arvalis* – как и предыдущий вид, по характеру распространения относится к западным палеарктам (Зуевский, 1981). Характерен, преимущественно, для серых полевок, но в пределах этого рода в направлении с севера на юг (в подтайге и степи – также с запада на восток) набор видов основных хозяев меняется. Наиболее постоянным его хозяином на всей исследованной территории была полевка-экономка; в тундрах Ямала он приурочен также к полевке Миддендорфа, в южной тайге и подтайге – к темной полевке, в южной лесостепи и степи – к обыкновенной полевке.

4) *Eulaelaps stabularis*: широко распространенный палеарктический вид; гнездово-норовый паразит, факультативный гематофаг; на зверьках наиболее обычен в лесной зоне; в гнездах (особенно в подтайге и лесостепи), входит в число фоновых видов, занимая второе место после *Haemogamasus ambulans*. Выраженной приуроченности к гнездам определенных видов хозяев не проявляет, но особенно многочислен бывает в гнездах узкочерепной полевки в северной лесостепи и степи ($V=45,8-80,0\%$; $I_o=11,6-14,4$ экз.).

5) *Haemogamasus nidiformes* – представитель восточно-сибирской фауны (Зуевский, 1981); гнездово-норовый паразит,

факультативный гематофаг, регулярно встречается на зверьках, но высокого обилия на них не достигает. Максимальное обилие его отмечено в гнездах грызунов на Ямале (особенно – в гнездах полевки Миддендорфа: $I_0=9,4-18,2$ экз.). В направлении с севера на юг его доля в населении убежищных гамазовых клещей заметно снижается ($p<0,001$).

6) *Haemogamasus ambulans* – один из самых массовых (особенно в гнездах) и широко распространенных видов; облигатный неисклнучительный гематофаг. Присутствует в очесах практически всегда, составляя в населении гамазовых клещей на зверьках от 1,8 до 16,0 %, но высокого обилия обычно не достигает. В убежищном комплексе занимает первое место среди гамазовых клещей ($19,0\pm 0,1$ %), наиболее обилен в гнездах полевки Миддендорфа на Ямале, полевки-экономки – в южной тайге, водяной полевки в подтайге и северной лесостепи, степной пеструшки – в степной зоне. В общей структуре паразито-хозяйинных отношений *Hg. ambulans* с мелкими млекопитающими преобладает гнездовой тип паразитизма, о чем косвенно свидетельствует достоверно более высокая средняя численность этого клеща в гнездах ($I_{д}/I_0=17,7/1,43$), чем в очесах ($9,9/0,21$; $p<0,001$).

7) *Hirstionyssus isabellinus* – палеарктический вид, облигатный исключительный гематофаг. Наиболее многочислен на зверьках в тундре и северной тайге ($31,8-43,4$ % в очесах), максимального обилия достигал на грызунах в южных субарктических тундрах. Сочетает в жизненной схеме различные типы паразитизма, но, в отличие от *Hg. ambulans*, который более тесно связан с гнездами хозяев, в структуре паразито-хозяйинных отношений *Hi. isabellinus* с мелкими млекопитающими более выражена тенденция усиления связи с телом хозяина – в очесах *Hi. isabellinus* встречается постоянно, часто доминирует; обилие его на зверьках ($16,8/0,58$) достоверно выше, чем в гнездах ($1,8/0,03$; $p<0,001$). Эти данные позволяют считать *Hi. isabellinus* нидиколом со значительным элементом эпизойности в жизненном цикле.

8) *Hirstionyssus eusoricis* – относится к группе бореальных европейско-сибирских видов, облигатный исключительный гематофаг. Являясь специфическим паразитом землероек, повсеместно сопутствует им, встречаясь преимущественно на теле

хозяина. Кроме бурозубок, в эктопаразитоценозе которых он, как правило, доминирует, единично встречается на грызунах; бывает обилен в гнездах бурозубок и куторы, в гнездах грызунов очень редок.

9) *Androlaelaps casalis*: гнездово-норовый паразит, один из фоновых видов в гнездах некоторых видов птиц. В наших сборах на зверьках был единичен, наиболее обилен – в гнездах грызунов в южной лесостепи. Столь широкое распространение его в Западной Сибири имеет особое значение, поскольку это один из немногих видов гамазовых клещей из числа облигатных неисклчительных гематофагов, который используется в качестве модельного в вирусологических исследованиях, и для которого экспериментально доказано наличие устойчивых связей с арбовирусами (Тагильцев, Тарасевич, 1982; Якименко и др., 1991; Якименко, 1996).

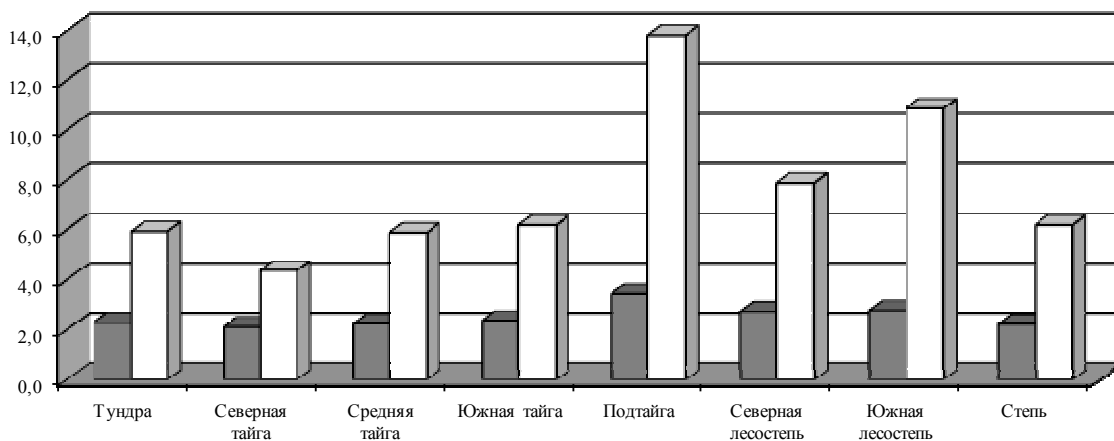
В общем эктопаразитоценозе доля гамазовых клещей в населении членистоногих на мелких млекопитающих была максимальной в тундре ($83,1 \pm 0,4$ %), южной лесостепи ($78,7 \pm 0,4$ %) и степи ($78,2 \pm 0,5$ %), минимальной – в южной тайге ($22,1 \pm 0,4$ %); в гнездах зверьков доля гамазид по зонам практически не менялась, оставаясь на очень высоком уровне (от 78,8 до 100 %) по всей равнинной территории Западной Сибири. По количеству представленных видов наиболее богата фауна гамазовых клещей на зверьках (102 вида) и в гнездах (105 видов) в северной лесостепи, но максимальное видовое разнообразие и выраженные структурные отличия были отмечены в сообществах гамазовых клещей на мелких млекопитающих в подтайге и южной лесостепи.

Эти отличия отражали структурные перестройки, отмеченные в сообществах хозяев. В подтайге они были связаны с включением в состав населения мелких млекопитающих в качестве одного из фоновых видов полевой мыши (в составе эктопаразитофауны появились характерные для мышей *Laelaps pavlovskyi*, *L. agilis* и *Hirstionyssus apodemi*), а также с увеличением, по сравнению с южной тайгой, доли рыжей полевки (один из фоновых видов гамазовых клещей – *Laelaps clethrionomydis*, связанный с лесными полевками). В южной лесостепи в населении грызунов увеличилась доля видов степного фаунистического комплекса (джунгарского и барабинского хомячков,

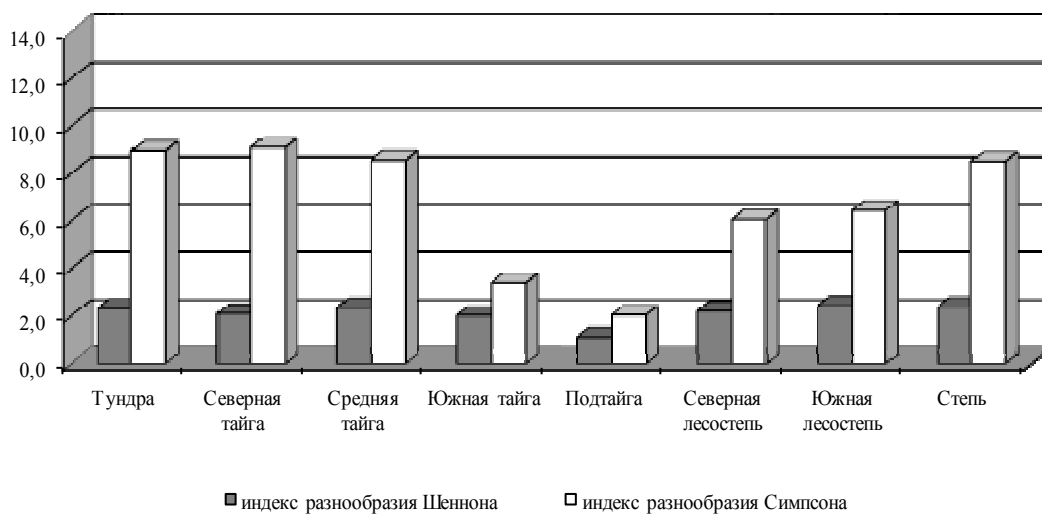
обыкновенного хомяка, узкочерепной полевки), в результате чего в составе эктопаразитофауны появились узко специализированные паразиты, связанные с ними (*Hirstionyssus criceti*, *Hi. transiliensis*, *Hi. gudauricus*).

В убежищном комплексе также отмечены подзональные отличия (см. рис. 1.1.1): самым низким видовым разнообразием отличались монодоминантные сообщества гамазид в гнездах грызунов из подтайги, где абсолютно доминировал паразитический *Haemogamasus ambulans* и южной тайги (доминант – свободноживущий *Hypoaspis (Pn.) marginpilosa*).

Гамазовые клещи на мелких млекопитающих



Гамазовые клещи в гнездах мелких млекопитающих



■ индекс разнообразия Шеннона □ индекс разнообразия Симпсона

Рис. 1.1.1. Видовое разнообразие сообществ гамазовых клещей на мелких млекопитающих и в их гнездах в различных ландшафтных зонах и подзонах Западной Сибири

В целом, в пределах изучаемой территории качественный состав и структура населения гамазовых клещей, как на зверьках, так и в их гнездах менялись синхронно – изменение видового состава гамазовых клещей за счет включения или «выпадения» отдельных видов сопровождалось перестройкой структуры доминирования в сообществах и перераспределением обилия фоновых видов.

Глава 1.2. Омская геморрагическая лихорадка

История открытия и общая характеристика

Омская геморрагическая лихорадка – зоонозная трансмиссивная вирусная инфекция человека и животных (ондатр). Ареал возбудителя охватывает лесостепные районы северной подзоны четырех административных территорий Уральского (Тюменская и Курганская обл.) и Сибирского (Омская и Новосибирская обл.) федеральных округов. Как самостоятельная нозологическая форма заболевания, ОГЛ описана в 1945–1946 гг. (Чумаков, 1948) в связи с заболеваемостью населения в трех лесостепных районах на территории Омской области. Вирусная природа заболевания была установлена в 1947 г. (Гагарина, Нецкий, 1955).

По-видимому, следует признать, что причиной, приведшей к эпидемической активизации природных очагов ОГЛ, в том числе – и появлению случаев заражения трансмиссивной природы, стала интродукция на эндемичных по ОГЛ территориях ондатры – вида, акклиматизированного на разных территориях Западной Сибири в 1929–1936 г. (Лавров, 1993) и оказавшегося высококочувствительным (Дунаев и др., 1975) к данному возбудителю. Вирус вызывает клинически выраженное заболевание у данного вида грызунов, сопровождающееся высокой летальностью.

ОГЛ вызывается вирусом, относящимся (по ныне действующей классификации вирусов) в группе флавивирусов млекопитающих, передаваемых клещами (по предшествующей классификации – к вирусам комплекса клещевого энцефалита),

входящим в р. *Flavivirus*, сем. *Flaviviridae*. Геном вируса ОГЛ представлен несегментированной одноцепочечной РНК положительной полярности протяженностью 10787 оснований. Вирион, размером 50 – 60 нм (Tikhomirova et al., 1971), содержит РНК, связанную с капсидным белком (С). Нуклеокапсид окружен двуслойной липидной оболочкой, заимствованной у клетки-хозяина (Gritsun et al., 2003), в которой интегрированы два вирусных гликопротеина – мембранный (М) и оболочечный (Е) белки, что является типичным для вирусов данного семейства. Вирусная РНК флавивирусов представлена протяженной кодирующей областью (~ 10242 н.) и короткими 5'- и 3'-концевыми нетранслируемыми участками. Вирусная РНК кодирует в пределах основной рамки считывания структурные (капсидный – С, белок-предшественник мембранного белка – ргеМ, и оболочечный – Е) и неструктурные (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B and NS5) вирусные белки (Lindenbach and Rice, 2003). Неструктурные белки имеют существенное значение в репродукции (NS5 – кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу) и сборке (напр., NS1) вируса в клетке.

Вопросы генетического разнообразия, распространения и эволюции вируса ОГЛ

Вопрос о происхождении данного возбудителя обсуждался с момента открытия вируса ОГЛ. Рассматривалась как возможность заноса возбудителя при интродукции ондатры с американского континента (хотя поголовье, интродуцируемое в Западной Сибири, было завезено уже из Европы) или с перелетными птицами (в связи с наличием в Индии возбудителя КЛБ, вызывающего клинически сходное заболевание), так и его автохтонное происхождение. Уже с момента получения первых изолятов вируса ОГЛ было обращено внимание на проблему дифференциальной диагностики вирусов КЭ и ОГЛ, что являлось следствием их выраженного антигенного сходства. Попытки дифференциации штаммов ОГЛ и КЭ традиционными методами (РН и РСК с гипериммунными сыворотками

экспериментальных животных) были неэффективны. Не обнаружено четких различий и в опытах перекрестного иммунитета на белых мышах при испытании штаммов ОГЛ и КЭ на иммунизированных животных. Эти опыты только подтвердили близость сравниваемых возбудителей. Тем не менее, в группе штаммов вируса ОГЛ, изолированных из разных источников (из иксодовых клещей, крови и органов больных людей), отмечали наличие (на основании серологических реакций) двух дифференцируемых групп (Кларк, 1964; Корнилова и др., 1971; Корнилова, Гагарина, 1971). Штаммы, изолированные от ондатр, обнаруживали широкие антигенные связи с обеими группами. С 1947 по конец 90-х гг. прошлого века проведено достаточно много традиционных вирусологических исследований, направленных на прояснение вопроса филогенетических связей и происхождения вируса ОГЛ, итогом которых было заключение о близости вирусов ОГЛ и КЭ.

Прогресс в этом направлении был достигнут с внедрением молекулярно-генетических исследований. Впервые самостоятельное положение вируса ОГЛ в группе флавивирусов млекопитающих, передаваемых клещами, было показано на основании изучения первичной структуры фрагмента генов NS5 (Kuno et al., 1998) и E (Gould et al., 2000) нескольких штаммов. В дальнейшем, на основании изучения первичной структуры двух генов (E и NS5) нескольких десятков штаммов вируса ОГЛ, изолированных в период с 1946 по 2004 гг. (Карань, Якименко, Матущенко и др., 2004), был подтвержден самостоятельный геновидовой статус вируса ОГЛ, определены уровни сходства (внутри- и межгрупповые) вируса ОГЛ и трех генотипов вируса КЭ (табл. 1.2.1).

Штаммы вируса ОГЛ формируют два различающихся (по уровню гомологии генов, кодирующих поверхностные белки и вирусную полимеразу) кластера (рис. 1.2.1–1.2.4). Первый объединяет штаммы с территории Новосибирской и большинство штаммов с территории Омской области, различных по времени и источнику изоляции. Второй – штамм с территории Курганской области и два – с крайней западной (в пределах северной лесостепи) территории Омской области. К этой же группе штаммов относятся штаммы «Гурьев» и «Боголюбовка»,

изолированные в период первого периода активности очагов на территории Омской области, относящейся в настоящее время к подзоне центральной лесостепи. Уровень внутригрупповой гомологии гена E штаммов представителей первого кластера – составляет 96,7–100 %, второго – 98,1–100 %, между кластерами – 87,2–89,0 %. Величина внутригрупповой эволюционной дистанции характеризует выраженную однородность кластеров ($0,013 \pm 0,004$ и $0,012 \pm 0,003$ соответственно), объединяющих штаммы вируса ОГЛ, и соответствует таковой в группе вирусов КЭ европейского генотипа ($0,013 \pm 0,004$). Величина межгрупповой дистанции (использованы модели максимального подобия (MLN) и Kimura-2 distance parameter), рассчитанная для двух кластеров вирусов ОГЛ, на порядок превышает внутригрупповую дистанцию ($0,126 \pm 0,016$) и соответствует таковой разных генотипов ВКЭ по отношению друг другу (от $0,135 \pm 0,015$ для европейского и дальневосточного, до $0,169 \pm 0,020$ для сибирского и дальневосточного). От других представителей группы, в том числе и со сходным по клиническим проявлениям – возбудителем КЛБ, дистанцированность вируса ОГЛ находится в пределах межвидовых различий (22,7 – 28 %, с КЛБ – 27,9 %).

Уровень внутригрупповой гомологии гена NS5 штаммов представителей первого кластера – составляет 96,4–99,8 %, между кластерами – 88,6–89,5 %. При этом уровень гомологии с наиболее близким генотипом клещевого энцефалита – западным – составляет 83,2–83,9 %, что перекрывается с уровнями гомологии в пределах ВКЭ трех генотипов (субтипов).

Таблица 1.2.1. Размах (в %) нуклеотидной дивергенции гена E вирусов КЭ и ОГЛ

	ВКЭ (Вост.)	ВКЭ (Сиб.)	ВКЭ (Европ.)	ОГЛ
ВКЭ (Вост.)	0,3–6,8	14,1–16,2	13,7–16,5	17,5–20,2
ВКЭ (Сиб.)		0,5–6,4	14,1–15,8	17,8–18,5
ВКЭ (Европ.)			1,2–2,2	16–17,8
ОГЛ				11,5–12,3

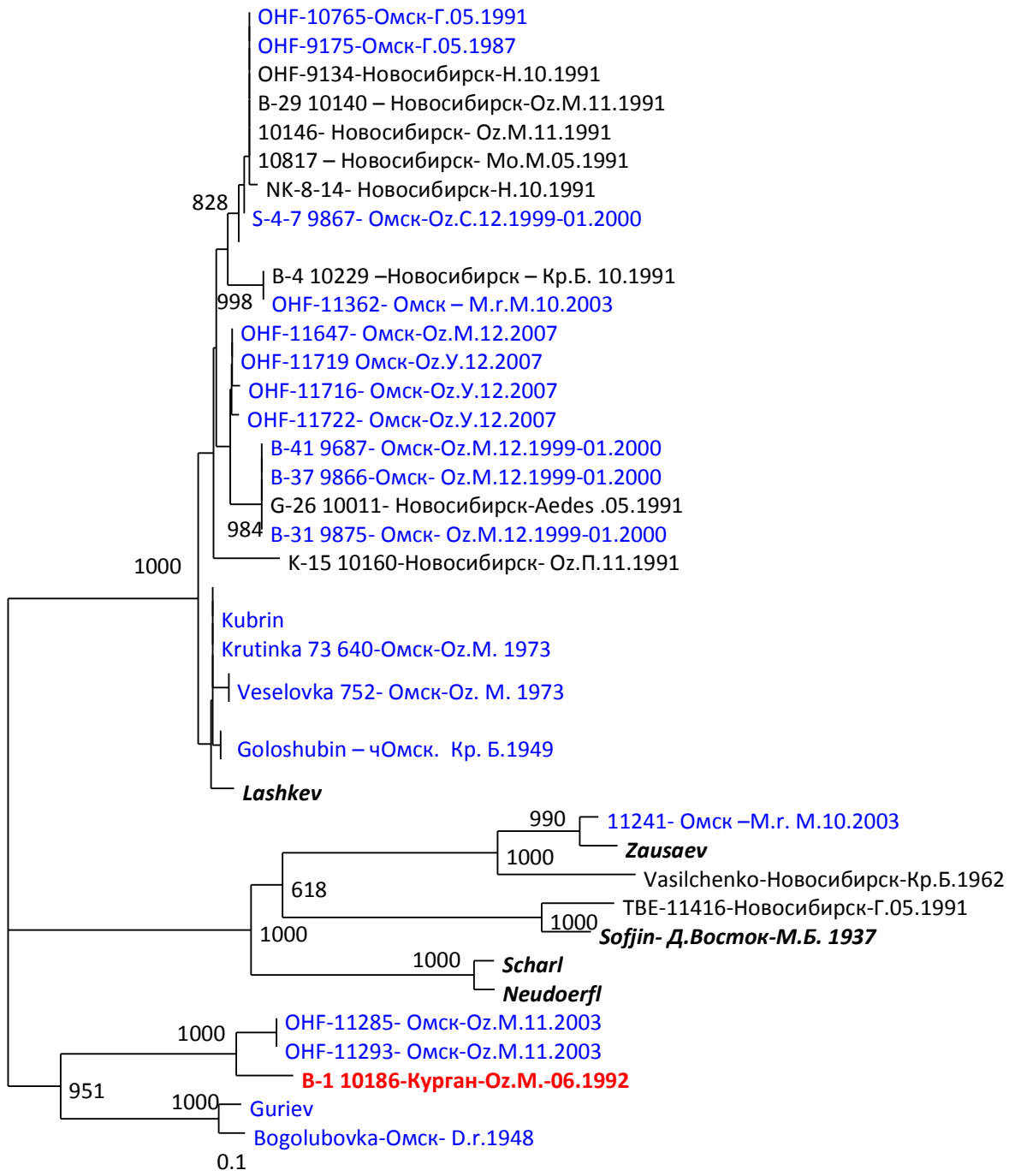


Рисунок 1.2.1. Дендрограмма, отражающая неоднородность штаммового состава вируса ОГЛ. Построена с применением метода ближайшего соседа (NJ) по гомологичному фрагменту гена E (540 н.о., см. Табл. 1.3.4), программа ClustalX 2.1. В узлах указаны величины бутстрэпа.

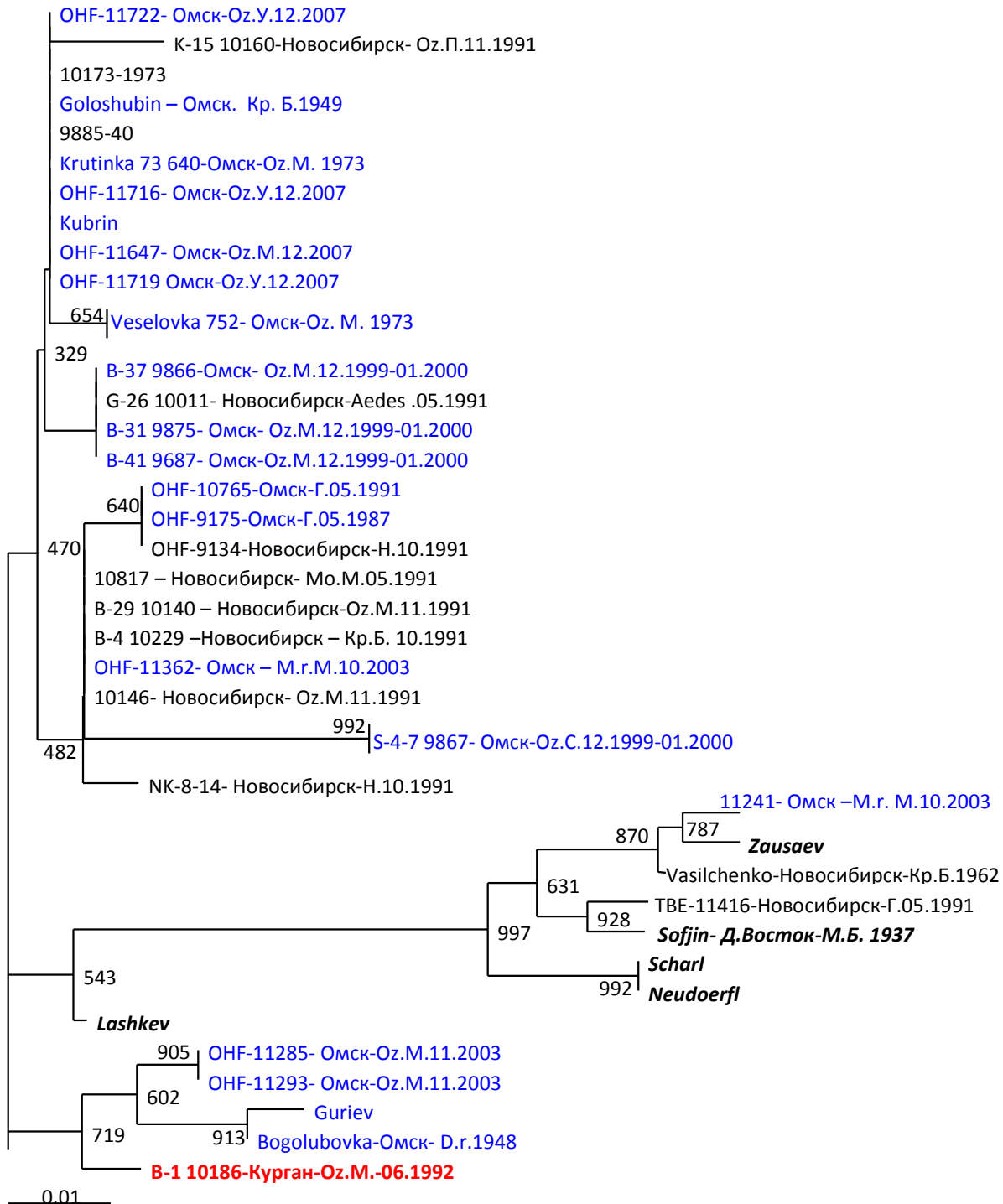


Рисунок 1.2.2. Дендрограмма, отражающая неоднородность штаммового состава вируса ОГЛ. Построена с применением метода ближайшего соседа (NJ) по гомологичному фрагменту белка E (180 а.к., см. Табл. 1.2.2.), программа ClustalX 2.1. В узлах указаны величины бутстрэпа.

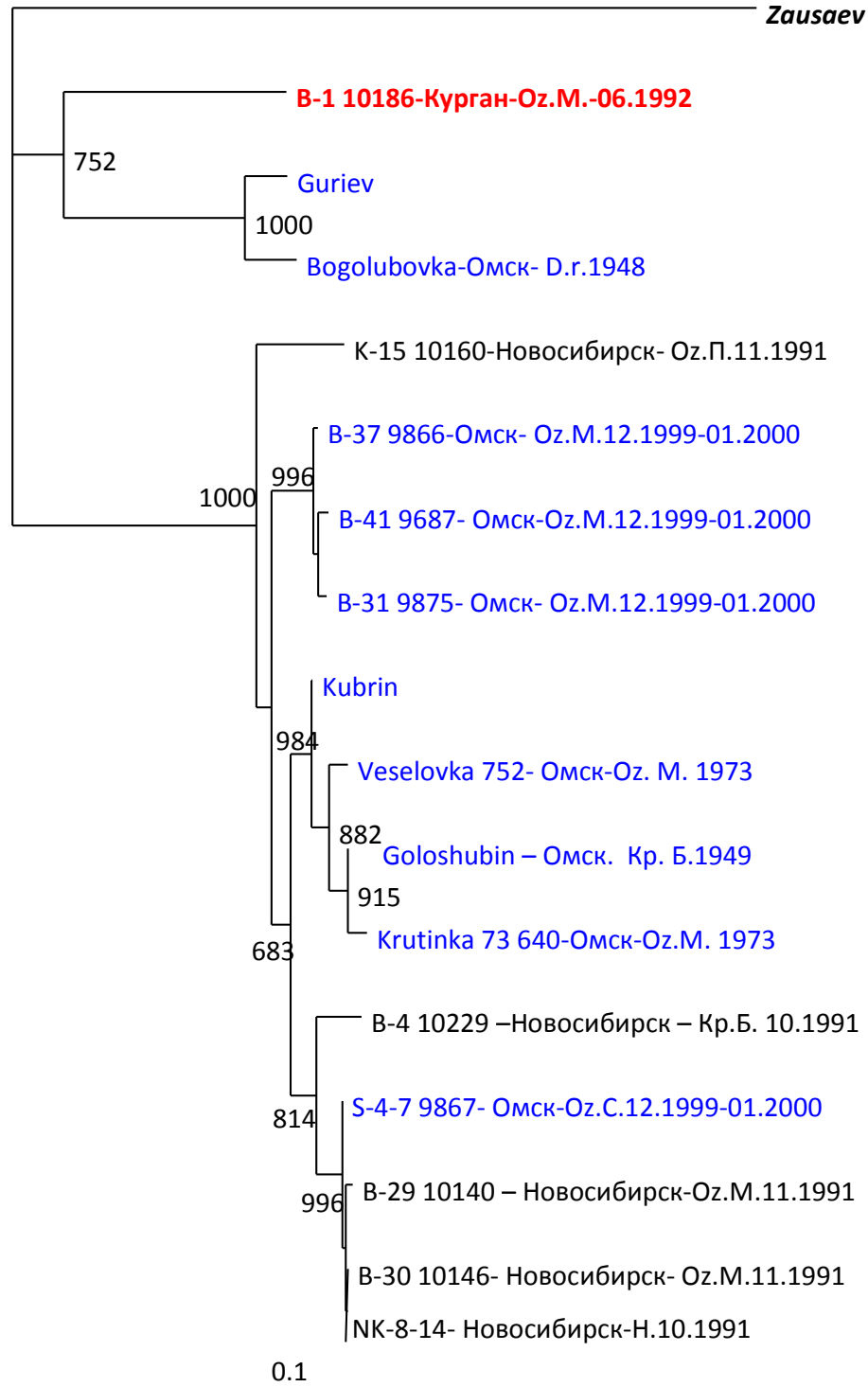


Рисунок 1.2.3. Дендрограмма, отражающая неоднородность штаммового состава вируса ОГЛ. Построена с применением метода ближайшего соседа (NJ) по гомологичному фрагменту гена NS5 с координатами в нуклеотидной последовательности 9254-9849 (длина: 594 н.о. см. Табл. 1.2.3.), программа ClustalX 2.1.

В узлах указаны величины бутстрэпа.

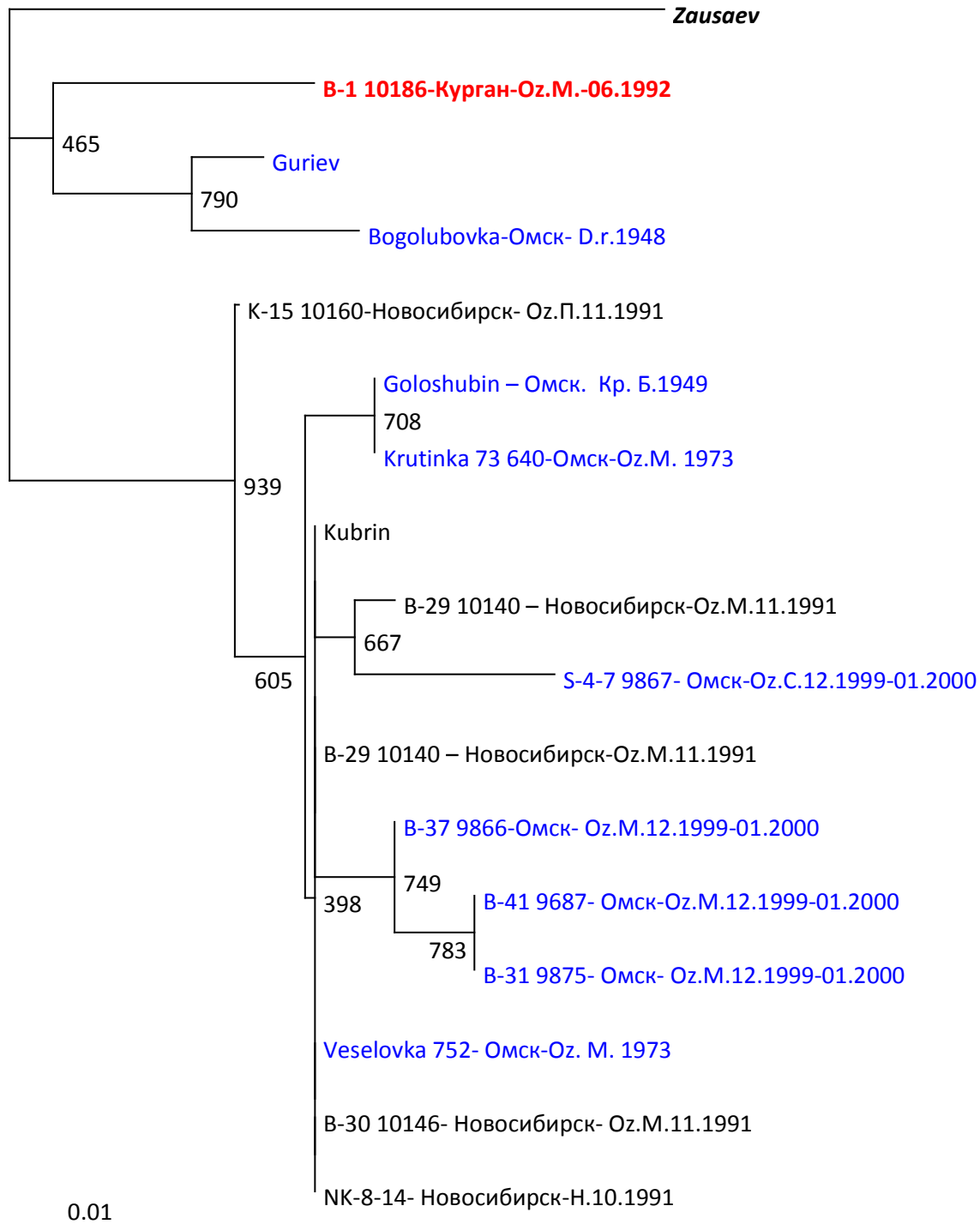


Рисунок 1.2.4. Дендрограмма, отражающая неоднородность штаммового состава вируса ОГЛ. Построена с применением метода ближайшего соседа (NJ) по гомологичному фрагменту белка NS5 с координатами в нуклеотидной последовательности 9254–9849 (длина: 198 а.к. см. Табл. 1.3.5), программа ClustalX 2.1. В узлах указаны величины бутстрэпа.

Из приведенных дендрограмм и анализа внутри- и межгрупповых уровней гомологии видно, что общая картина кластеризации сохраняется при сравнении нуклеотидных и аминокислотных последовательностей данных фрагментов белков E и NS5, предполагая сходную картину их микроэволюции. Сведений о прямом взаимодействии этих белков недостаточно (было показано, что они входят в разные белковые комплексы (Морозова и др., 1990)). Однако, проведенное исследование существования корреляций при возникновении нуклеотидных замен в кодирующих последовательностях вирусов клещевого энцефалита (Раздел 3.3) показало, что наиболее значимые корреляции из связывающих замены нуклеотидов в E и NS5, приходятся на использованную для построения дендрограмм С-концевую часть неструктурного белка (см. Табл. 1.2.2–1.2.3.), которая соответствует РНК-зависимой РНК-полимеразе, а не на часть, кодирующую метилтрансферазу (Раздел 3.1), чем, возможно и объясняется сходство дендрограмм, построенных по E и NS5, хотя механизм, приводящий к возникновению таких корреляций пока не ясен.

Таблица 1.2.2. Участок последовательности белка Е длиной 180 а.к. с координатами от начала аминокислотной последовательности белка Е 244 – 423 а.к. (первые 30 нуклеотидов в этом участке – **TTTGGAGCTCCACACGCTGTGAAAATGGAC** соответствуют аминокислотному фрагменту начинающейся с **FGAPHAVKMD** в последовательности, кодирующей белок Е). Координаты указаны относительно последовательности изолята Guriev (AB507800), первая аминокислота белка, определяется по месту расщепления полипептида протеазой согласно (Charrel *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2003). Черным цветом выделены замены, отличающиеся от наиболее распространенного варианта в данной позиции. Символом «X» обозначены триплеты, содержащие неоднозначно идентифицированный нуклеотид (код IUPAC-n).

Штамм	Источник изоляции	Аминокислота: координаты от начала Е																													
		244	246	260	265	267	269	271	273	277	279	282	299	306	310	313	317	331	349	350	353	358	363	364	366	389	407	414	415	416	418
		Доменные участки белка Е																													
		II									I	III																			
B-4 10229	Кровь, человек	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Goloshubin	Кровь, человек	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
9885-40	Кровь, человек	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Kubrin	Кровь, человек	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Guriev	Кровь, человек	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	V	M	T	T	V	A	T	P	D	I	T	M	S	K	R	A	A	L	E
OHF-11362	Мозг, красная полевка	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
10817	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Krutinka-1973-640	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Veselovka -752	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	Y	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E

Продолжение таблицы 1.2.2

Штамм	Источник изоляции	244	246	260	265	267	269	271	273	277	279	282	299	306	310	313	317	331	349	350	353	358	363	364	366	389	407	414	415	416	418
10146-1991	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
B-29-10140	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
B-31-9875	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	T	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
10173-1973	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
10176-1973	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	Y	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
K-15-10160	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	T	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11285	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	V	T	T	V	A	A	P	D	I	T	M	S	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11293	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	V	T	T	V	A	A	P	D	I	T	M	S	K	R	V	V	L	E
B-1 10186	Мозг, ондатра	S	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	T	T	V	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11647	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
B-41-9687	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	T	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
B-37-9866	Мозг, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	T	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
9867-2000	Селезенка, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	X	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11716	Урина, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11719	Урина, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
ОНФ-11722	Урина, ондатра	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
9984-NK-8-14-3	Гамазовые клещи	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	T	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Bogolubovka	<i>D. marginatus</i>	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	T	T	V	A	T	P	D	I	T	M	S	K	R	A	A	L	E
ОНФ-10765-d1	Гидробионты	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	X

Продолжение таблицы 1.2.2

Штамм	Источник изоляции	244	246	260	265	267	269	271	273	277	279	282	299	306	310	313	317	331	349	350	353	358	363	364	366	389	407	414	415	416	418
ОНФ-9175-d1	Гидробионты	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	X
ОНФ-9134-d1	Гидробионты	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	A	S	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	X
G-26-10011	Кровососущие комары	F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	T	A	P	D	I	T	M	N	K	R	V	V	L	E
Lashkev		F	V	Q	L	S	A	A	L	E	T	H	M	M	A	T	A	A	S	P	D	I	T	I	N	K	R	V	V	L	E
Scharl	Мозг, человека	F	A	Q	L	A	A	V	V	E	T	H	M	M	T	T	A	T	S	P	N	I	T	I	N	S	K	V	V	I	E
Neudoerfl	Иксодовый клещ	F	A	Q	L	A	A	V	V	E	T	H	M	M	T	T	A	T	S	P	N	I	T	I	N	S	K	V	V	I	E
11241	Мозг, полевки	F	A	Q	M	S	A	V	V	D	T	H	M	M	T	A	T	T	S	P	N	I	T	I	N	S	R	V	V	I	E
Zausaev	Мозг, человек	F	A	Q	L	S	A	V	V	D	T	H	M	M	T	A	T	T	S	P	N	I	T	I	N	S	R	V	V	I	E
TBE-11416	Клещ 2	F	A	H	L	S	A	V	V	D	T	H	M	M	T	T	I	A	S	P	N	I	I	I	N	S	R	V	V	I	E
Sofjin	Мозг, человека	F	A	Q	L	S	A	V	V	D	T	H	M	M	T	T	I	A	S	P	N	M	T	I	N	S	R	V	V	I	E
Vasilchenko	Кровь, человека	F	A	Q	L	S	A	V	V	D	A	H	M	M	T	A	T	T	F	P	N	I	T	I	N	S	R	V	V	I	E

Примечание: Данный участок включает в себя пентапептид 320-324 а.к., который был описан в качестве уникального для различных флавивирусов переносимых клещами (Gao et al., 1993), но консервативного у всех генотипов вируса клещевого энцефалита (Ecker et al., 1999). Наибольшее количество замен в рассматриваемом участке у данной группы вирусов приходится на домен III образующий боковую поверхность димера (на рисунке 1.2.5 показано стрелками), состоящего из белков E. Эту поверхность формируют аминокислоты, замены которых, как считается, причастны к определению круга хозяев флавивирусов и ответственны за их тропизм и вирулентность (Rey et al., 1995).

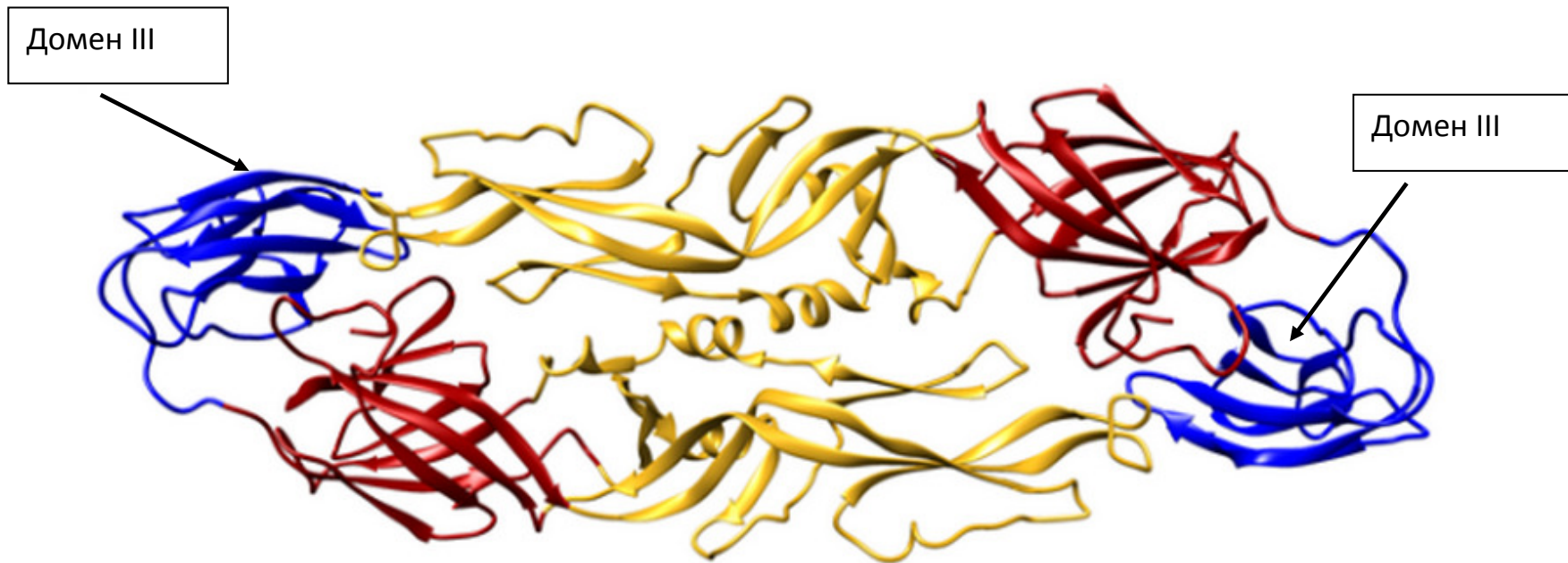


Рисунок 1.2.5. Димер, образованный белками Е. Домен I (состоит из аминокислот с номерами 1–52, 132–193, 280–296) показан красным, домен II (52–132, 193–280) – желтым, домен III (296–394) – синим (Rey *et al.*, 1995).

Таблица 1.2.3. Участок последовательности белка NS5 длиной 197 а.к. с координатами от начала нуклеотидной последовательности изолята Guriev (AB507800) – 9254-9849 н. Начальные нуклеотиды этого участка: **TTCTATGCGGACGACACAGCCGGATGG** соответствуют аминокислотной последовательности: **FYADDTAGW**. В белке NS5 этот участок имеет координаты 531–728 а.к. относительно первой аминокислоты белка, определяемой по месту расщепления полипептида протеазой согласно (Charrel *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2003). Черным цветом выделены замены, отличающиеся от наиболее распространенного варианта в данной позиции. Символом «X» обозначены триплеты, содержащие неоднозначно идентифицированный нуклеотид (код IUPAC-n).

элементы RdRP	1			middle finger	2				3			4			E		
Координаты от начала NS5																	
Штаммы	554	557	567	589	594	617	646	649	657	661	671	676	688	699	702	703	726
Kubrin	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
K-15 - 10160	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	G	T	A	S	S	V
Goloshubin	I	H	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
Krutinca- 1973 - 640	I	H	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
Veselovka-752	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
B-30 -10146	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
9984-NK-8-14-3	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
B-29/10140	I	Y	A	G	V	M	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
S4-7/9867	I	Y	A	X	V	X	X	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
B-4/10229	I	Y	A	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
B-41/9687	I	Y	T	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	G	V
B-31/9875	I	Y	T	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	G	V
B-37/9866	I	Y	T	G	V	I	R	R	G	I	I	S	T	A	S	S	V
Guriev	I	Y	A	G	I	I	R	H	G	V	M	G	I	V	S	S	V
Bogolubovka	L	Y	A	G	I	I	R	R	R	V	M	G	I	V	S	S	V
B-1/10186	I	H	A	G	V	I	R	H	G	V	I	G	I	V	P	S	I
Zausaev	I	Y	A	G	V	I	R	K	G	V	I	G	T	V	S	S	I

Примечание: Данный участок у флавивирусов соответствует последовательности NS5, кодирующей вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRP) (Lu, Gong, 2013). Он захватывает такие её структурные элементы как «middle finger», обеспечивающий целостность всего домена, а также мотивы B,C,D,F. Участки последовательности, помеченные в таблице как 1,2,3,4 – это изменчивые фрагменты, разделяющие их. Фрагмент захватывающий 624–647 а.о. белка NS5 у флавивирусов является частью структуры, чувствительной к мутациям и ответственен за подавление синтеза интерферонов в зараженной клетке (Park et al., 2007).

В настоящее время предпринимаются попытки оценить возможные сроки межвидовой дивергенции в группе флавивирусов млекопитающих, передаваемых клещами. По разным оценкам общий предок ВКЭ мог существовать 1700–2100 (Локтев, 2011) или более 3000 лет (Heinz et al., 2012) назад. Следует отметить, что данные оценки базируются на моделях, требующих внесения определенных условностей, например, об одинаковых темпах эволюционного процесса для всей анализируемой выборки, что расходится с реальной ситуацией. Применение других моделей дает иные оценки сроков дивергенции ВКЭ (Ковалев, Мухачева, 2014). Результаты оценки сроков дивергенции ВОГЛ (Karan et al., 2013, Платонов и др., 2014) с применением модели «ослабленных часов» (relaxed clock)) позволяют предполагать, что в предшествующей истории эволюции вируса ОГЛ было несколько этапов: первый (разделение двух основных кладов) – около 700 лет назад, второй (дальнейшая кластеризация) – в конце XVIII века, с последующим эволюционированием вирусов в пределах сформировавшихся кластеров в течение XIX и XX веков. Интерес представляет совпадение сроков основных эволюционных событий с глобальными климатическими изменениями – началом и окончанием т.н. «малого ледникового периода». Применением этой же модели было показано, что вирусы лихорадки леса Кьясанур и Алхурма «отделились» от общего предка также 700 лет назад (Dodd et al., 2011). Эти расчеты позволяют говорить о том, что вирус ОГЛ имеет автохтонное происхождение, и, вероятно (см. Karan et al., 2013, Платонов и др., 2014), существовал в Западной Сибири в течение последнего тысячелетия.

Появление высокочувствительного вида – ондатры, интродуцированного в фауну региона, послужило «амплификатором», что привело к резкому росту популяции вируса и появлению дополнительных путей передачи ВОГЛ человеку, приведшие к появлению эпидемических вспышек.

Эпизоотологическая характеристика природных очагов

С момента открытия вируса ОГЛ в 1946 г. и до настоящего времени выделяются четыре периода активности природных очагов данной инфекции.

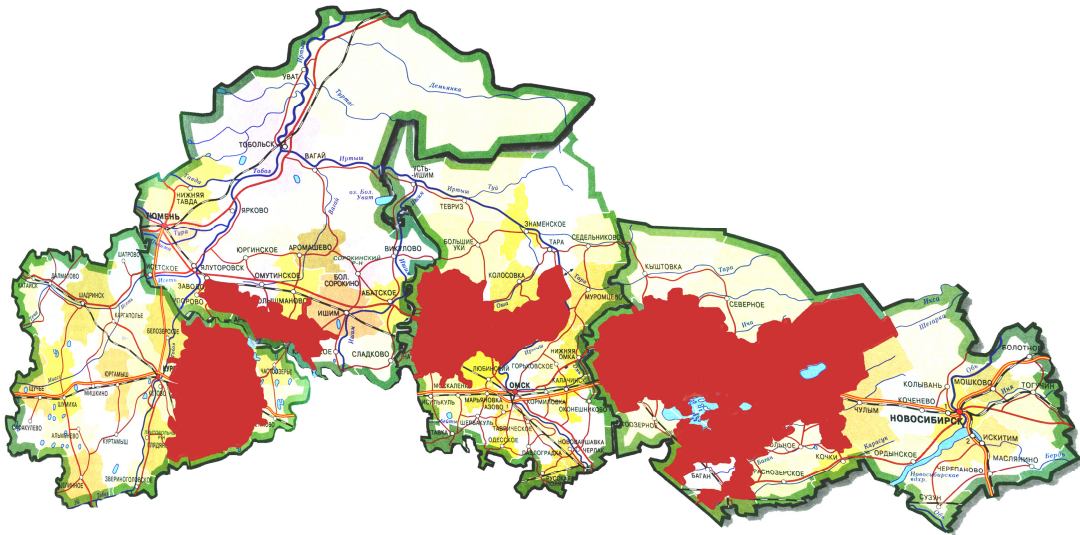
Первый – 1946–1972 гг. – характеризовался одновременно эпидемической и эпизоотической активностью очагов ОГЛ. В 1946–1952 гг. отмечались массовые эпидемические вспышки на фоне эпизоотий, а в 1952–1962 гг. заболеваемость приобрела спорадический характер при сохраняющихся эпизоотиях ОГЛ в популяциях ондатр. Вспышки заболевания ОГЛ на эндемичных территориях не имели синхронного характера. Так в Омской области заболеваемость населения регистрировалась в 1945–1958 гг. с максимумом в 1945–1946 гг.; в Новосибирской области – в 1961–1962 гг. (нетрансмиссивные случаи заражения); в Курганской области – в 1964–1965 гг. (нетрансмиссивные случаи заражения); в Тюменской области – в 1965 г. (рис. 1.2.6. А).

Во второй – 1973–1986 гг. – так называемый «межэпидемический» период, официальная регистрация заболеваний людей ОГЛ отсутствовала, что безусловно свидетельствовало о резком снижении, но не прекращении эпидемической активности очагов (Лебедев, 1976). На это указывал высокий уровень иммунной прослойки ($34,7 \pm 1,2\%$) в возрастных группах, не контактировавших за предшествующий период жизни с эпидемически и эпизоотически активными очагами, что свидетельствовало о сравнительно недавнем контакте с возбудителем, и выявление (ретроспективно) 18 случаев заболевания ОГЛ среди жителей эндемичных территорий.

Третий период, наступивший в последнее десятилетие XX века (рис. 1.2.6. Б), характеризовался выраженной

эпизоотической активностью природных очагов ОГЛ на территории Новосибирской (1989–2002 гг.) и Омской (1999–2007 гг.) областей. Спорадические случаи падежа ондатр зарегистрированы в Тюменской (1987 г.) и Курганской областях (1992 г.).

А



Б

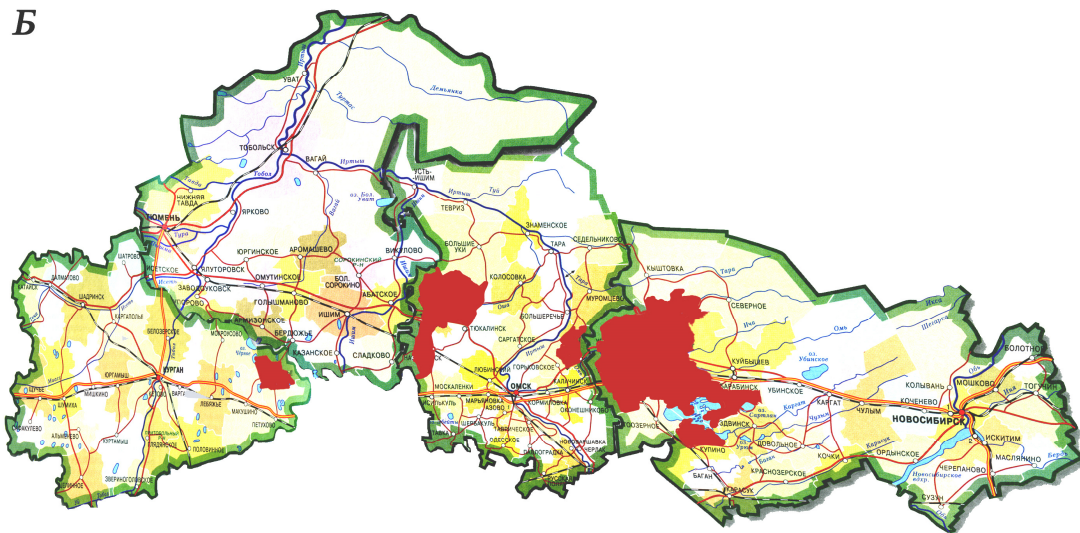


Рисунок 1.2.6. Область эпизоотий ОГЛ в популяциях ондатры:
 А) период 1946–1972 гг.;
 Б) 1989–2007 гг.

Значительный уровень эпидемической активности очагов был зарегистрирован только в четырех районах Новосибирской области (1989–2002 гг.) – Усть-Таркском Венгеровском, Татарском и Чановском. Единичные случаи заболеваний ОГЛ отмечены также в Тюменской (1987 г.) и Омской (1988 г.) областях.

После 2002 г. в Новосибирской, а с 2008 г. – в Омской областях наступил четвертый (очередной «межэпидемический») период. Отсутствие официальной регистрации заболеваемости ОГЛ среди населения в «межэпидемические» периоды, вероятно, связано с преобладанием стертых и инаппарантных форм заболеваний, на наличие которых было указано уже в начале изучения клинической картины заболевания ОГЛ (Ахрем-Ахремович, 1959). В период с 1959 г. (Омская область) и с 1962 г. (Новосибирская область), и вплоть до эпидемической активизации очагов ОГЛ в 1988–1989 гг. именно атипичные формы преобладали в структуре заболеваний населения ОГЛ.

К 1970 г. на территории 25 районов четырех областей – Новосибирской, Омской, Тюменской и Курганской (Равдоникас и др., 1968; Корш, 1971; Харитонов, Леонов, 1978) – было зарегистрировано 76 эпизоотических вспышек ОГЛ в популяциях ондатры, сопровождавшихся в отдельные годы в Омской и Новосибирской областях заболеваемостью среди местного населения. В 1962–1963 гг. в Уватском р-не Тюменской области при обследовании погибших ондатр изолирован возбудитель, идентифицированный как вирус ККЭ (Попов и др., 1966).

В 1966–1967 гг. на водоемах Бердюжского р-на наблюдалась эпизоотическая вспышка среди ондатр, этиологически (по результатам вирусологических и иммунологических исследований) связанная с вирусом комплекса КЭ и, по-видимому, явившаяся причиной вспышки ОГЛ среди охотников. Было изолировано 16 штаммов вируса из органов павших ондатр, 2 – от клинически здоровых, отловленных во время промысла, по одному – от домовый мыши и бурозубки. В 1971–1972 гг. при обследовании трупов ондатр с шести водоемов Бердюжского района на четырех водоемах (оз. Долгое, Башкирское, Бердюжское и Сорочье) было изолировано шесть штаммов вируса (Гурбо и др., 1974). Во всех случаях изоляты были

идентифицированы, как вирусы комплекса КЭ с применением серологических методов, что объяснимо в силу высокого антигенного сходства ВКЭ и ВОГЛ.

В период эпизоотической и, частично, эпидемической активизации очагов ОГЛ, между 1988 и 2007 гг., эпизоотические вспышки в популяциях ондатры были зарегистрированы на территории Курганской (Частозерский р-н), Омской (Крутинский, Тюкалинский, Саргатский и Называевский р-ны) и Новосибирской (Усть-Тарковский, Венгеровский, Татарский, Чановский и Довольненский р-ны) областей. За осенний период 1989–1991 гг. эпизоотиями были охвачены практически все лесостепные озера Усть-Тарковского и Венгеровского районов Новосибирской области. В остальных случаях на территориях Новосибирской, Курганской и Омской областей эпизоотии никогда не охватывали большие территории, как правило, отмечались на отдельных водоемах. При возникновении эпизоотии на крупном озере (напр., оз. Салтаим-Тенис в Крутинском р-не Омской области), процесс развивался медленно, никогда не охватывая одновременно весь водоем: все начиналось с локального участка, и в течение последующих 1–3 лет распространялось на весь водоем.

Как в предшествующий период эпизоотической активности очагов ОГЛ, так и в современный, полностью отсутствует какая-либо синхронизация процесса на разных эндемичных территориях. Так в Новосибирской области эпизоотии начались в 1989 г. и перестали регистрироваться к середине 90-х прошлого века (спорадическая заболеваемость регистрировалась до 2002 г.), в Омской области – с 1999 по 2007 гг. В Курганской области достоверно известна одна вспышка в 1992 г., протекавшая в весенне-летний период.

Ведущая роль в диссеминации вируса в период эпизоотических вспышек принадлежит безусловно ондатре. Вирусемия в организме данного животного при экспериментальном инфицировании (Гагарина и др., 1954; Харитонов, Леонов, 1978) сопровождается накоплением вируса в различных органах в высоких титрах (мозг – 9,02–10,77, почки – 4,02–6,02, легкие – 3,02–3,52, печень – 2,02–3,77 lg ЛД₅₀/мл), в крови – в титрах,

достаточных для инфицирования членистоногих-гематофагов любых групп (5,0–7,27 lg ЛД₅₀/мл). Вирус выделяется с экскрементами во внешнюю среду (прежде всего – в воду) в достаточно высоких титрах (урина – 3,27–4,77, экскретывы – 4,52–5,02 lg ЛД₅₀/мл). Это соответствует результатам исследований трупов ондатр из эпизоотически активного очага в Омской области (2007 г.) – вирус изолировали из разных органов, были получены сходные показатели титров вируса в крови и моче животных – 5,2 и 3,15 lg ЛД₅₀/мл соответственно (Якименко и др., 2008 г.). В нативной озерной воде вирус ОГЛ сохраняет жизнеспособность более 2 недель летом и до 3,5 мес. – в зимне-весенний период, в условиях естественного температурного режима (Харитонов, Леонов, 1978). Исследования современного периода (2007 г.) также подтверждают возможность длительного (более 3 мес.) сохранения вируса ОГЛ при температуре +4⁰С в нативной или взятой из водоема фильтрованной (через стерилизующие фильтры) воде при её диссеминации уриной павших от ОГЛ ондатр. Эти данные объясняют механизм нетрансмиссивного пути передачи вируса в эпизоотическом цикле циркуляции.

На протяжении всего периода исследования данного вируса представлял и представляет интерес вопрос о структуре эпизоотического цикла и механизмах резервации в межэпидемический период. Уже на первом этапе исследований был проведен ряд лабораторных экспериментов (Морозов, 1963; Харитонов, 1967; Федорова, 1969; Харитонов, Леонова, 1978) по восприимчивости к данному вирусу различных позвоночных из состава фауны очаговых территорий. Низкая чувствительность к вирусу ОГЛ была выявлена у лесных полевок (красной и рыжей). У полевок-экономок в эксперименте острая инфекция с гибелью наблюдалась у трети опытных животных, у остальных носила бессимптомный характер с вирусемией продолжительностью более двух недель с момента заражения. В почках и моче вирус обнаруживали до трех недель с момента заражения. У узкочерепной полевки была показана достаточно высокая чувствительность к вирусу ОГЛ, что исключало её существенную роль в качестве хозяина вируса. Только у водяных

полевок была установлена естественная видовая резистентность к вирусу ОГЛ – у инфицированных зверьков развивается бессимптомная, латентная, хроническая (до 5,5 мес. – время эксперимента) персистенция вируса в органах. Интенсивная эвакуация вируса во внешнюю среду с экскретами наблюдается в течение двух-трех недель с момента заражения (титры вируса в моче – 2,27–3,15; в экскретах – 1,52–2,02 lg ЛД₅₀/мл). В те же сроки вирус выявляется в крови (4,02–5,77 lg ЛД₅₀/мл). Продолжительность вирусемии составляет 14–17 дней. На возможное участие водяных полевок в циркуляции вируса ОГЛ исследования того периода указывали по наличию у 6,2 % обследованных животных комплементсвязывающих антител (Нецкий и др., 1961), что, тем не менее, не позволяет однозначно утверждать, что это является результатом их контакта именно с вирусом ОГЛ, а не КЭ.

Результаты проведенных экспериментов демонстрируют возможность реализации нетрансмиссивного переноса в эпизоотическом цикле циркуляции вируса ОГЛ. Передача возбудителя может осуществляться при непосредственном контакте зверьков на тропах и в местах совместного обитания, а также опосредованно, аэрогенным путем и через зараженную мочой и фекалиями воду. Этими же путями возможно распространение вируса, как среди ондатр, так и других видов животных. Ондатры в инкубационном периоде после заражения остаются высокоподвижными, при этом титр вируса в крови и в выделяемых во внешнюю среду экскретах (в моче и фекалиях) достаточен для инфицирования эктопаразитов из числа гематофагов, и контактирующих с ними других животных. Только с началом манифестации инфекционного процесса животные перестают покидать гнездо, в котором и наступает их гибель (рис. 1.3.9). Инфицирование возможно без непосредственного контакта, через инфицированную выделениями воду, гнездовой субстрат и др. Так, кроме сохранения вируса в воде, вирус ОГЛ до 16 сут. (Харитонов, Леонов, 1978) сохраняется в подстилке гнезд водяных полевок, остатках корма и экскрементах. В лабораторных экспериментах осуществляли инфицирование зверьков (реципиент) как при совместном содержании с вирусоносителем (донор), так и в гнезде, ранее принадлежащем

донору. В период эпизоотий вирус неоднократно изолировали из органов клинически здоровых ондатр, добытых во время пушного промысла. Этот феномен также обеспечивает и нетрансмиссивный путь передачи вируса от животного человеку в эпидемическом цикле циркуляции. Этот же феномен обеспечивает, с нашей точки зрения, инфицирование гидробионтов из числа Hydracarinae (Якименко и др., 1997) и объясняет выявление вируса у имаго кровососущих комаров из очагов ОГЛ (Волынец, 1970; Волынец, Богданов, 1974; Калмин и др., 1991). Как известно, у последних преимагинальные фазы развития являются гидробионтами-фильтраторами, что обеспечивает возможность алиментарного пути инфицирования вирусом на стадии личинки. Однако штаммы вируса, изолированные от гидробионтов и кровососущих комаров, характеризуются крайне низкой периферической активностью, что ставит под сомнение их значимость в эпидемическом цикле возбудителя.



Рисунок 1.3.9. Гибель ондатр в результате заболевания ОГЛ (Омская обл., Крутинский р-н, северная лесостепь, оз. Теннис, декабрь 2007 г., погибшая в хатке ондатра)

Выявление в эксперименте высокой видовой резистентности (на фоне высокой восприимчивости) водяных полевков к вирусу ОГЛ, поднимает вопрос о связи вспышек численности водяной полевки на эндемичных по ОГЛ территориях с возникновением эпизоотий в популяциях ондатр. Выделяют два типа вспышек массового размножения водяной полевки – «болотного типа», связанного с влажными фазами обводненности территории лесостепи, и «озерного и озерно-болотного типа», происходящие в сухие фазы обводненности (Максимов, 1984). Озерно-займищный, озерно-сплавинный и озерно-болотный типы вспышек размножения водяной полевки связаны с регрессивной фазой (внутривековой цикл) водного режима, происходят на фоне снижения уровня воды в озерах (11-летний цикл) и постепенного их обсыхания, что сопровождается уменьшением глубин водоемов и создания более благоприятных условий для круглогодичного обитания водяной полевки на водоемах (Максимов, 1989). В XX веке на территории между Уралом и Обью прослеживалась следующая хронология смены фаз уровня воды в озерах: спад – 1915–1936 гг., минимум – 1936–1940 гг., начало подъема в 1941–1946 гг., подъем – 1946–1950 гг., максимум – 1946–1948 гг. для западных территорий, и 1950–1951 гг. – для восточных территорий; начало спада – 1948–1949 гг. для западных, и 1951–1952 гг. – для восточных территорий (Шнитников, 1957). На уровне оз. Чаны влажные фазы приходились на периоды 1936–1940 гг., 1946–1950 гг., 1957–1961 гг., 1969–1973 гг., 1979–1981 гг. Промежуточные интервалы времени характеризовались сухими фазами (Максимов, 1984). Продолжительность влажных фаз варьирует от 4 до 5 лет (ср. 4,8), сухих – 5–7 лет (ср. 5,8). Между началами влажных фаз проходило от 10 до 12 лет (ср. 10,6), сухих – от 10 до 12 лет (ср. 11). Периоды влажной фазы не всегда характеризуются обилием осадков. Для них характерен циклически наблюдаемый подъем уровня грунтовых вод, что проявляется в росте заболоченности Северной Барабы (Природные циклы Барабы, 1982).

Периоды массового размножения водяной крысы совпадают с влажными периодами, запаздывая на один год от начала фазы. В Барабинской лесостепи периоды «болотных» вспышек

численности водяной полевки наблюдали в 1936–1939 гг., 1946–1949 гг., 1957(6)–1960 гг., 1968–1972 гг., 1979–1981 гг.; периоды «озерных и озерно-болотных» вспышек – в 1952–1954 гг., 1962(1963)–1966(1967) гг., 1976–1978 гг. Периоды высокой численности водяной полевки в Омской области (с квазипериодом 7–10 лет) – 1948, 1950, 1957–1959, 1967, 1972–1974, 1980 гг. Период с 1943 по 1946 гг. характеризовался низкой численностью вида. Две территории, эндемичные по ОГЛ (Омская обл. – Тюкалинский, Крутинский, Саргатский и Называевский р-ны; Новосибирская обл. – Усть-Тарковский, Венгеровский, Чановский и Барабинский р-ны) характеризуются самостоятельной траекторией динамики численности вида (Ефимов и др., 1988). По мнению авторов на территории Западной Сибири действует, по крайней мере, одна общая причина, вызывающая колебание численности водяной полевки, и три частные. Частные причины действуют разнонаправленно и независимо: на одних участках ареала они могут способствовать подъему численности, на других – приводить к её падению.

В популяциях ондатр за период наблюдения за видом выделяют около семи вспышек численности. Период эпизоотических вспышек в популяциях ондатр на территории Новосибирской области (1961–1962 гг.), этиологически связанных с вирусом ОГЛ, накладывается на четвертый (от начала регистрации циклических процессов в популяции вида в регионе) цикл численности ондатр, продолжавшийся 6 лет (1957–1963 гг.), с пиком в 1961 г. Этот период был связан с подъемом уровня воды в озерах в очередном 11-летнем цикле (Абашкин, 1978). Для данного периода был характерен один подъем численности «болотного» типа (1957(6)–1960 гг.) и начало подъема численности «озерного и озерно-болотного» типа (1962 г.) у водяной полевки. Следующий, V цикл численности в популяции ондатры, длившийся 5 лет (1963–1968 гг.) с пиком в 1964 г., частично перекрывался с периодом вспышки численности «озерных и озерно-болотных» у водяной полевки, и возник в результате подъема уровня воды в озерах, не связанным с 11-летней климатической циклическостью. Приведенные данные дают основание для предположения существования связи циклов численности

в популяциях водяных полевков и ондатр в местах их совместного обитания с возникновением эпизоотий в популяциях ондатр, в том числе – и этиологически связанных с вирусом ОГЛ. По крайней мере, эпизоотии среди ондатр в 1961–1962 гг. в Барабинской лесостепи сопряжены с высокой численностью ондатры и ростом численности водяной полевки («болотный» тип вспышки численности), сформировавшейся на фоне завершения влажного периода. Эпизоотической активизации очагов ОГЛ на оз. Салтаим-Тенис в Крутинском районе Омской области, наблюдавшейся в 1999–2001 гг. (и «рецидивом» в 2007 г.), также предшествовала вспышка численности водяной полевки «болотного» типа в 1995 г. Можно говорить о том, что данный вопрос имеет основания для дальнейшего детального исследования, учитывая наши современные знания о самостоятельном статусе вируса ОГЛ.

Тем не менее, с момента открытия вируса он был охарактеризован как типичный арбовирус, передающийся человеку при кровососании от пастбищных иксодовых клещей. Такому подходу способствовала, в частности, высокая плотность населения иксодового клеща *Dermacentor (pictus) reticulatus* в очагах ОГЛ, варьировавшая в 1946 г. в местообитаниях разного типа (Саргатский р-н Омской области) от 79–130 до 620–720 экз./га. Впоследствии при исследовании в 1952–1954 гг. очагов ОГЛ в северной и южной лесостепи Омской области была показана инфицированность вирусом ОГЛ как клещей *D. reticulatus*, так и *D. marginatus* (Гагарина, 1957). На момент исследования соотношение данных видов в составе фауны иксодид северной лесостепи составляло (соответственно) 54 % и 46 %, в южной – 16,2 % и 83,8 %. В структуре населения мелких млекопитающих доминирующее положение на данный период времени занимала узкочерепная полевка (*Microtus gregalis Pall*), являвшаяся основным прокормителем преимагинальных фаз развития клещей этих видов. Последующие исследования показали достаточно высокую чувствительность узкочерепной полевки к вирусу ОГЛ (Харитонов, Леонов, 1978) и невысокий уровень трансвариальной передачи вируса у клещей *D. reticulatus* (Федорова, 1969), что поставило под сомнение такой путь резервации вируса, как единственно возможный.

Изложенные выше данные позволяют нам говорить о том, что трансмиссивный путь передачи возбудителя в эпидемическом цикле является скорее следствием, а не причиной эпидемической активизации очагов. Так в структуре заболеваемости людей как в современный (минувший) период эпидемической активности, так и в предшествующий (завершившийся в 70-х гг. прошлого века) только около 7 % случаев носили трансмиссивный характер заражения. Вероятно, особенности адаптации вируса ОГЛ ориентированы на эффективную диссеминацию вируса нетрансмиссивным путем, что его принципиально отличает от «ближайшего родственника» – ВКЭ.

Тем не менее, вопросы резервации вируса ОГЛ на сегодня остаются открытыми. Исследовался вопрос реализации трансмиссивного пути переноса вируса в эпизоотическом цикле без участия пастбищных иксодовых клещей. В связи с предполагаемой ролью в эпизоотическом процессе водяной полевки, в сферу внимания попал убежищный иксодовый клещ, экологически тесно связанный с этим видом позвоночных – т.н. «крысиный клещ» *I. apronophorus*. Прямых указаний на роль этого вида клещей в циркуляции вируса ОГЛ нет, предположения (Равдоникас и др., 1971) сделаны на основании серологических исследований молодых (в возрасте до двух месяцев) животных (водяных полевок, ондатр и полевок-экономок), экологически связанных с *I. apronophorus*, отловленных до начала периода активности личинок лугового клеща. В их крови в РДПА были обнаружены специфические гемагглютинины в достаточно высоких (от 1:40 до 1:320) титрах, что в принципе могло быть результатом относительно недавнего контакта с возбудителем. Ссылка на изоляцию штамма вируса из личинок таежного и «крысиного» клещей, снятых с животных, не вносит ясности в данный вопрос о роли вида в циркуляции вируса ОГЛ.

В экспериментах было показано (Алифанов и др., 1961), что возможно заражение паразитирующих на инфицированных вирусом ОГЛ ондатрах и водяных полевках гамазовых клещей, среди которых (Алифанов, 1961) имеются общие для данных грызунов виды (прежде всего – *Haemogamasus ambulans*). Инфицированный на больной ондатре ее специфический паразит

Laelaps multispinosus способен заражать здоровых животных вирусом ОГЛ в результате кровососания, обуславливая, при наличии значительного количества особей клещей, возникновение клинически выраженного заболевания, в том числе – со смертельным исходом. В эксперименте показана возможность взаимозаражения ондатр и водяных полевок (Харитонов, Леонов, 1978) в гнезде, ранее принадлежащем донору. Тем не менее, изолировать вирус из клещей *L. multispinosus*, снятых с трупов ондатр, павших от ОГЛ (2007 г.), не удалось.

В другой серии лабораторных экспериментов (Тагильцев, Тарасевич, 1982) на модельном виде гамазовых клещей – *Androlaelaps casalis* (неисключительный гематофаг) – показал возможность сохранения вируса в организме клещей этого вида до 40 суток, наличие трансвариальной передачи возбудителя потомству, возможность заражения вирусом чувствительных систем при питании. Позднее (Якименко, 1996) в лабораторном эксперименте на спонтанно инфицированных клещах этого же вида было показано, что продолжительность сохранения вируса ОГЛ существенно больше (до 9 месяцев – продолжительность эксперимента), при этом изменяются (снижаются) вирулентные свойства вируса с возможностью последующей реверсии. Эти данные позволяют говорить об участии убежищных членистоногих, прежде всего – гамазовых клещей, в циркуляции и резервации вируса ОГЛ в период выраженной эпизоотической активности очагов. Вне этого периода выявить вирус ОГЛ в гамазовых клещах – нидиколах гнезд млекопитающих, обитающих на территории очага, не удается.

Заболеваемость ОГЛ

Возникновение случаев заболевания людей лихорадкой неустановленной этиологии в нескольких лесостепных районах Омской области после 1940 г. послужило поводом для изучения инфекции и выделения её в новую нозологическую форму – ОГЛ. О случаях подобных заболеваний сообщалось уже в период 1940–1944 гг., однако в 1945 и 1946 гг. были зарегистрированы

две крупные эпидемические вспышки – соответственно 200 (два летальных) и 623 (четыре летальных) случая заболевания (Ястребов, Якименко, 2014). Заболевания имели два сезонных пика – весенний и осенний, поэтому было предложено предварительное название болезни – «омская весенне-осенняя лихорадка».

В годы открытия омской геморрагической лихорадки не было с достоверностью установлено у местных жителей заболеваний нетрансмиссивного характера, за исключением подозрительных на ОГЛ случаев в деревне Горносталевке Саргатского района Омской области в 1945 г., ретроспективно подтвержденных серологическим путем (Беляева, Чумаков, 1965). Внимание исследователей в те годы было сосредоточено на выяснении трансмиссивного пути передачи вируса (Федюшин, Нецкий, 1948). Такому подходу способствовал предшествующий опыт исследования природных очагов КЭ и высокая численность в очагах ОГЛ иксодового клеща *Dermacentor reticulatus (pictus)*, в результате чего практически все заболевшие ОГЛ отмечали контакт с клещами. Кроме того, в сезонной динамике заболеваемости в 1945–1946 гг. выделяли два сезонных пика – весенний и осенний, что также давало повод трактовать все случаи заболевания как трансмиссивные. Именно это обстоятельство послужило поводом в дальнейшем рассматривать появление вспышек нетрансмиссивной природы как результат изменения структуры очагов вируса. Тем не менее, еще в 1946–1948 гг. М. П. Чумаков и др. наблюдали случаи заражения ОГЛ лабораторных работников, занимающихся изучением ондатры, а позже (1948–1966) было зарегистрировано несколько таких вспышек (Сиземова, 1965; Константинов и др., 1964; Беляева и Чумаков, 1965) среди сотрудников научно-исследовательских институтов, изучавших эпизоотии ондатр. Впоследствии было установлено, что вирус ОГЛ, циркулирующий в популяции ондатр, может, в случае контакта человека со зверьками, приводить к его заражению. Впервые вирус ОГЛ из мозга трупов ондатры был изолирован в 1954 г., подтверждение этих результатов – в 1957 г. (Гагарина и др., 1958; Баркова, Мелентьева, 1959). До этого (Гагарина и др., 1954) в лабораторном эксперименте была показана высокая восприимчивость

и чувствительность ондатры к заражению вирусом ОГЛ. Эти обстоятельства позволяют нам предполагать, что в структуре вспышек ОГЛ в 1945–1946 гг. значительная часть случаев заражения также имела нетрансмиссивную природу.

Первые детальные исследования «ондатровых» вспышек заболевания среди населения трех районов Новосибирской области относятся к 1961–1962 гг. В зимний период 1966–1967 гг. в Бердюжском р-не Тюменской области – вспышка ОГЛ нетрансмиссивного характера среди охотников (диагноз – на основании клинических, эпидемиологических и серологических данных) (Гурбо и др., 1974). До и после этих случаев заболевания ОГЛ в Тюменской области не регистрировались. Область регистрации заболеваемости населения ОГЛ в период 1946–1972 гг. отражены на рисунке 1.2.8А.

На территории Омской области регистрация заболеваемости людей ОГЛ прекратилась с 1959 г., в Новосибирской – с 1963 г. В период 1971–1989 гг. эпизоотий ОГЛ в пределах всего нозоареала инфекции не регистрировалось. В наступивший после 1973 г. так называемый межэпидемический период официальная регистрация случаев заражения людей вирусом ОГЛ отсутствовала, что, безусловно, свидетельствовало о резком снижении, но не прекращении (Лебедев, 1976) эпидемической активности очагов. В данный период на территории Омской области при ретроспективном исследовании выявлялись спорадические случаи заболевания людей ОГЛ с атипичной клинической картиной. При исследовании в 1971–1973 гг. 160 парных проб сыворотки, взятых у обратившихся в лечебные учреждения на эндемичной по ОГЛ территории с признаками лихорадки неясной этиологии, в 9,3 % случаев диагностирована ОГЛ, в 0,6 % случаев – КЭ (по 4–8-кратной разности нарастания титров с гомологичными и гетерологичными антигенами).

В последнее десятилетие XX в. произошла эпизоотическая активизация природных очагов ОГЛ (Бусыгин и др., 1996, 1998) на территориях Тюменской (1987 г.), Омской (в 1988 г., 1999–2007 гг.), Новосибирской (1989–2002 гг.) и Курганской (1992 г.) областей (Рис. 1.2.8Б). Регулярная заболеваемость ОГЛ населения регистрировалась только в Новосибирской об-

ласти (рис. 1.2.9), в Омской области за весь указанный период зарегистрировано только восемь случаев, в том числе два – трансмиссивной природы. В целом из 124 подтвержденных серологически случаев заболевания людей ОГЛ в период 1988 – 1994 гг. (Калмин, 1995), 92,1 % случаев заражения произошло нетрансмиссивным путем, 7,9 % случаев – трансмиссивным, в результате укуса клещей.

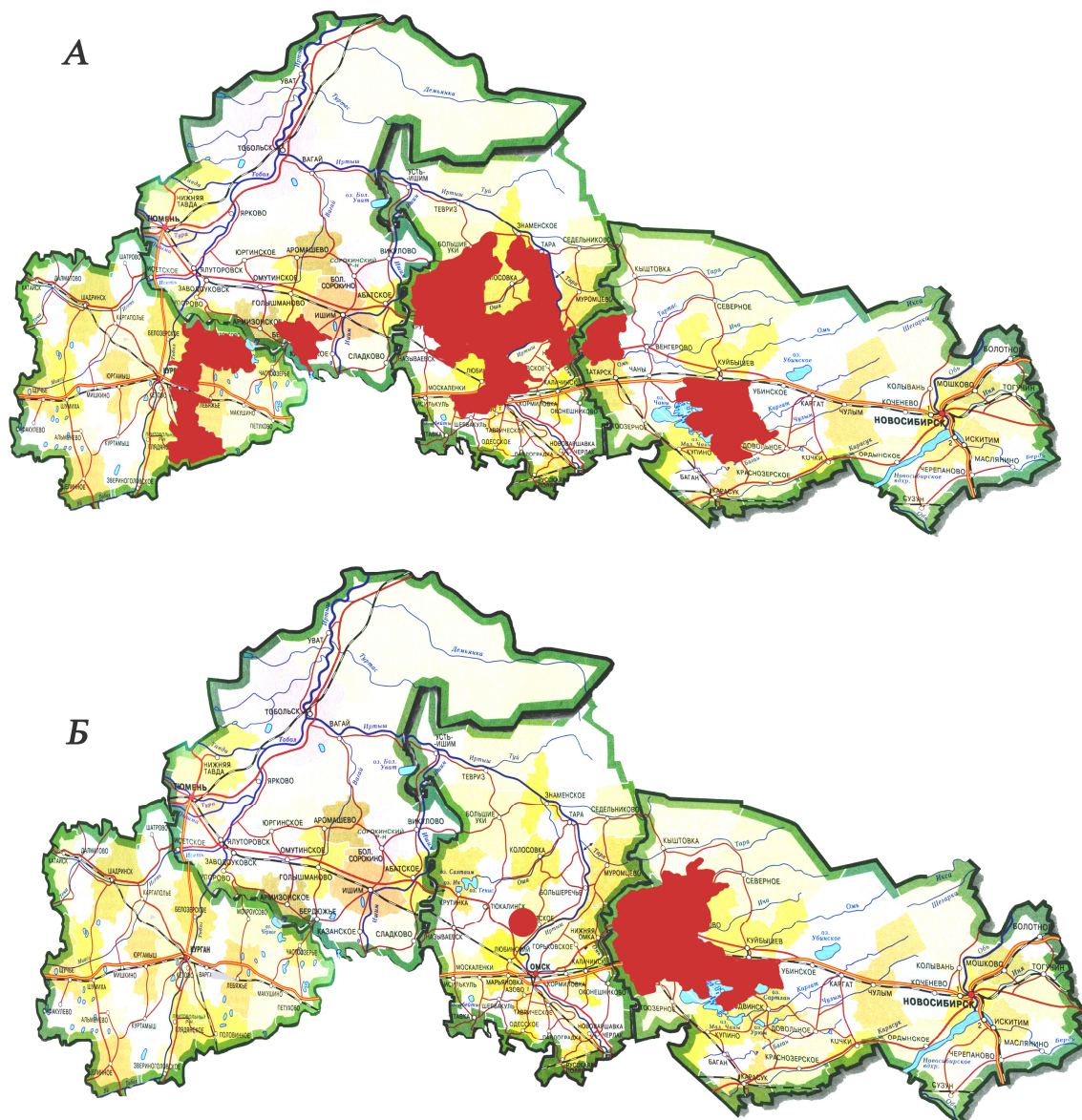


Рисунок 1.2.8. Регистрация заболеваемости ОГЛ: А) в период 1946–1972 гг.; Б) в период 1988–2002 гг.

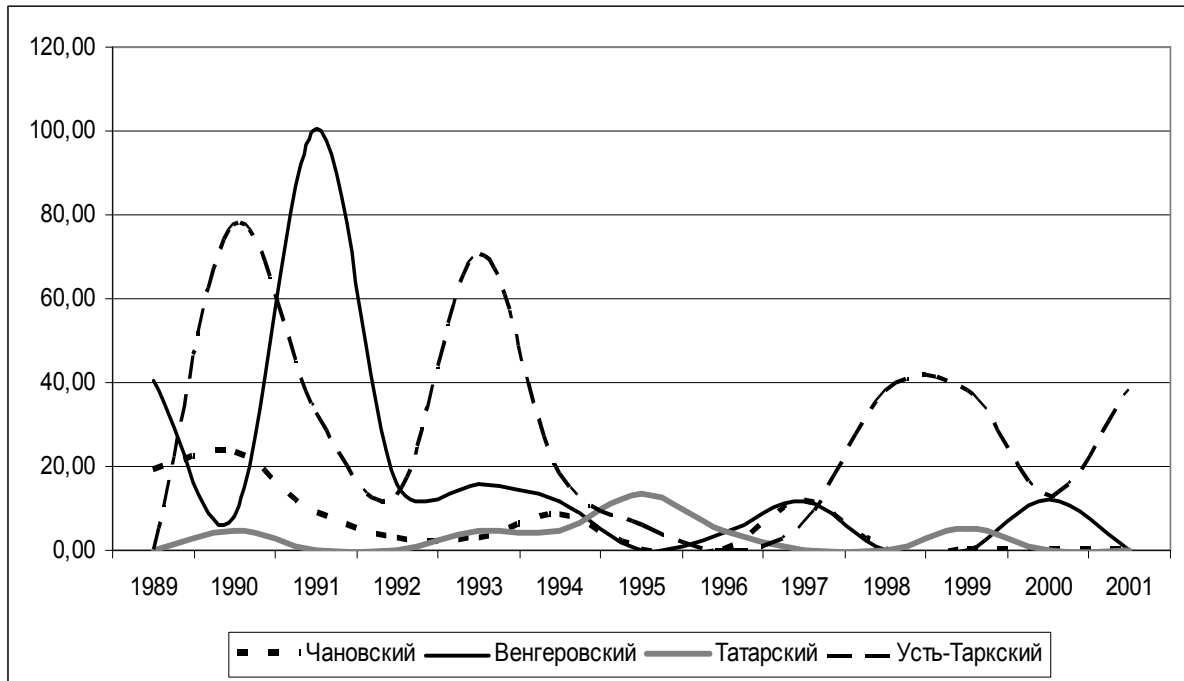


Рисунок 1.2.9. Динамика заболеваемости населения ОГЛ в четырех районах Новосибирской области (по данным официальной регистрации)

В Новосибирской области заболеваемость ОГЛ (116 случаев, прошедших официальную регистрацию) зарегистрирована в пяти сельских районах (от 1 в Северном р-не до 43 в Венгеровском р-н), гг. Новосибирск (6) и Татарск (13). Вероятно, зарегистрированная заболеваемость в областном центре и Северном р-не могла быть связана с посещением заболевшими эндемичных по ОГЛ территорий области, где в 1989–1994 гг. произошла эпизоотическая активизация очагов данной инфекции (Венгеровский, Усть-Таркский, Чановский и Татарский р-ны). За указанный период времени на территории четырех районов зарегистрировано 107 случаев заболевания из 116 в области. Основные пути заражения – нетрансмиссивной природы (93,3 %), при контакте с инфицированными ондатрами (n=108) или при употреблении воды из водоема (n=2), где протекает эпизоотия в популяции ондатр. В одном случае показано заражение при обработке добытого зайца.

Проблемы межвидовой дифференциации и диагностики ОГЛ

В данном разделе приводятся данные, демонстрирующие сложность видовой дифференциации ОГЛ и КЭ с помощью традиционных серологических методов, что напрямую связано с вопросами диагностики заболевания у людей. Мы преднамеренно избегаем анализа иммунной прослойки населения с территорий, эндемичных по КЭ и ОГЛ (в зоне перекрытия ареалов возбудителей), изучение которой активно проводили в 60–70 гг. XX века (Бусыгин, 2014). На основании этих исследований авторы проводили анализ изменения эпидемической активности очагов и псевдоочагов ОГЛ (включая «межэпидемический» период), и разграничивали зону преимущественной активности КЭ и ОГЛ. Как правило, данные массовые обследования осуществлялись с применением рутинных серологических методов (РТГА, РСК) с использованием неочищенных антигенов вирусов, приготовленных на основе боратно-солевого буфера. Единственное исследование (Чумаков и др., 1971), полученное в результате применения концентрированных очищенных антигенов в реакции диффузной преципитации в агаре (РДПА), дающее обоснованное представление об иммунной структуре населения в зонах перекрытия нозоареалов КЭ и ОГЛ, только подтверждает сложность интерпретации результатов массовых обследований.

Сегодня мы знаем о самостоятельном видовом статусе вирусов КЭ и ОГЛ. Более того, есть основание говорить о самостоятельном геновидовом статусе и основных (не сегодня – пять или более) генотипов ВКЭ. При этом (основываясь на структуре геномов) вирус ОГЛ наиболее близок ВКЭ европейского субтипа (генотипа / геновида). На протяжении всей истории изучения ОГЛ (в 2018 г. – 70 лет с момента открытия вируса) специалисты обращали внимание на крайне высокое антигенное сходство вирусов ОГЛ и КЭ, что создавало и продолжает создавать существенные проблемы дифференциальной диагностики в зоне перекрытия ареалов возбудителей, размер которой соответствует ареалу вируса ОГЛ. Во многих случаях дифференцировать даже изолированные штаммы серологическими методами удавалось

только с применением усложненных вариантов рутинных методов (напр., в кинетической РТГА). Исследования парных образцов сыворотки крови больных, проведенных сотрудником нашего института, к.м.н. О.Б. Калминым, в рамках своей диссертационной работы на соискание степени кандидата наук (Калмин, 1995), подтвердили исключительную сложность дифференциальной диагностики ОГЛ и КЭ. Используя очищенные антигены вирусов КЭ и ОГЛ, полученные методом сахарозо-ацетоновой экстракции, им проанализирована партия парных образцов сыворотки крови больных с установленным клинически диагнозом ОГЛ с использованием нескольких методов анализа, в том числе рутинные – РТГА и РСК. Результаты исследования образцов сыворотки крови больных, взятых на второй неделе заболевания (сыворотка, взятая на первой неделе заболевания диагностической ценности не имела) показали возможность применения только РТГА из примененного набора методов: соотношение титров антигемагглютининов ОГЛ/КЭ варьировала от 4:1 до 15:1. В остальных реакциях соотношение титров составляло 1:1 или 2:1, что исключало их применение в дифференциальной диагностике. Последующие исследования парных сывороток крови больных в РТГА и РСК показали непригодность РСК с использованием очищенных антигенов в качестве теста для дифференциальной диагностики КЭ и ОГЛ. Результаты РТГА показали зависимость результата от используемого штамма: в одних случаях различия титра антигемагглютининов ОГЛ/КЭ достигали четырех- и более-кратного уровня, в других – не превышали двукратных различий.

Удовлетворительный результат дифференциации вирусов КЭ и ОГЛ достигался в РСК с применением в качестве диагностикума т.н. Р- антигенов – «растворимых» антигенов (Дрокин и др., 1990, Злобин и др., 1991), получаемых обработкой очищенных антигенов 8М мочевиной с последующим диализом в боратно-солевом буферном растворе. Применение рутинных серологических реакций с использованием очищенных антигенов и ИАЖ к трем видам флавивирусов (КЭ, ОГЛ и ЛЗН), показывали значительные антигенные перекресты. Различные по географическому происхождению и источнику изоляции

штаммы вируса КЭ (n=15) при использовании очищенных антигенов в РСК давали антигенные перекресты с ИАЖ КЭ и ОГЛ от 1:1 -2:1 (n=13) до 4:1 (n=2); с ИАЖ КЭ и ЛЗН – от 64:1 (n=2) до 32:1 (n=13). При использовании РА ИАЖ связывалась только с гомологичным антигеном в титрах в 4–8 раз ниже гомологичного титра с очищенным антигеном, без перекрестных реакций с ОГЛ и ЛЗН. Проведение аналогичных исследований с пятью различными штаммами вируса ОГЛ дало сходные результаты: уровень антигенных перекрестов КЭ и ОГЛ в случае применения очищенных антигенов составлял 2–4-кратное различие, ОГЛ и ЛЗН – 16–64-кратное различие; в случае РА-антигенов ИАЖ связывалась исключительно с гомологичным антигеном в титрах в 4–8 раз ниже гомологичного титра с очищенным антигеном.

При проведении аналогичных исследований с пятью различными штаммами вируса ЛЗН в случае применения очищенных антигенов уровень антигенных перекрестов ЛЗН и КЭ составил от 64:1 до 8:1, ЛЗН и ОГЛ – от 32: до 16:1; в случае РА-антигенов ИАЖ связывалась исключительно с гомологичным антигеном в титрах в 4–8 раз ниже гомологичного титра с очищенным антигеном.

Результаты применения Р-антигенов были обнадеживающими, однако относительная сложность их изготовления, невозможность лиофилизации для длительного хранения (сопровождалась резким падением титров на несколько разведений), невозможность длительного хранения в жидком состоянии (как правило от 1 до 1,5 мес. максимально, при замораживании-оттаивании титры резко снижались) ограничило применение этой модификации РСК в диагностических исследованиях.

Результаты исследований в РСК с использованием очищенных и РА-антигенов приведены нами с целью продемонстрировать сложность дифференциальной диагностики КЭ и ОГЛ даже в случае исследования парных образцов сыворотки крови больных с клиническим диагнозом «ОГЛ». Широкомасштабные исследования иммунной прослойки населения на территориях (Бусыгин, 2014), эндемичных по обеим инфекциям (КЭ и ОГЛ), осуществлялись рутинными серологическими

методами с использованием неочищенных антигенов. С позиций наших сегодняшних представлений о молекулярной эпидемиологии этих двух возбудителей представляется невозможным корректная интерпретация полученных результатов. Однако эти исследования безусловно необходимы для выявления реконвалесцентов, перенесших ОГЛ в легкой форме, без обращения в лечебные заведения. Особенно это важно в т.н. «межэпидемические» периоды активности природных очагов инфекций, когда официальная регистрация заболеваемости как правило прекращается. Именно в процессе подобных исследований было установлено наличие в период относительного эпидемического благополучия (1964 – 1988 гг.) случаев заболевания ОГЛ среди населения эндемичных территорий (Лебедев, 1976).

Развитие молекулярно-генетических методов, давших возможность исследования геномов микроорганизмов, позволило разработать тест-системы на основе ПЦР для успешной и надежной индикации ВОГЛ и межвидовой дифференциации ВКЭ и ВОГЛ (Карань и др., 2004) в биологических материалах (органы теплокровных, включая человека, клещи). К сожалению метод не получил распространения в диагностике заболевания ОГЛ у человека по техническим причинам. Поэтому следует констатировать, что в настоящее время инструмент для своевременной и надежной диагностики ОГЛ у человека в практическом здравоохранении отсутствует.

Заключение

Таким образом, имеющейся на сегодня информация по эпидемиологии, эпизоотологии, молекулярной характеристике вируса ОГЛ сводится к следующему. ОГЛ – вновь активизировавшаяся инфекция, эпизоотическая и, частично, эпидемическая активность которой произошла в пределах известного нозоареала после длительного периода относительного покоя. Об относительном характере периода эпидемического и эпизоотического благополучия свидетельствуют выявление единичных случаев заболевания людей (1971–1974 гг.), а также

изоляция вируса от убежищных членистоногих (1972 г.) и гидробионтов Hydracarinae (1987 г.).

Синхронность эпизоотических вспышек в пределах зооареала отсутствует, эпизоотии в современный период происходят в популяциях ондатры на фазе высокой плотности населения последней на отдельных водоемах. Как в период первых эпизоотических вспышек, так и в современный период, эпизоотии ОГЛ никогда не охватывают сразу все поселения ондатры на данном водоеме: как правило, заболевание и падеж ондатр начинается с локального участка, и в дальнейшем, в течение 1–3 лет охватывается весь водоем. В отличие от периода 1946–1970 гг., когда эпизоотии начинались в июне-июле и продолжались до января, в современный период заболевание и падеж среди ондатр начинается в сентябре-начале октября и заканчивается, как правило, в декабре. В результате эпизоотии погибает более 70 % населения ондатры на водоемах. В следующий после эпизоотии период вирус присутствует в популяции ондатры, несмотря на отсутствие клинически выраженных случаев. Вирус также выявляется у ондатр на водоемах с низкой плотностью населения, на фоне отсутствия выраженного падежа.

Регулярная эпидемическая активность имела место только на территории трех-четырех административных районов Новосибирской области. В абсолютном большинстве случаев доминирует нетрансмиссивные пути инфицирования людей, как правило, при непосредственном контакте с инфицированными ондатрами.

В период эпизоотической и эпидемической активности очагов ОГЛ в цикл циркуляции вируса кроме ондатры вовлекаются гидробионты (Hydracarinae), убежищные членистоногие из числа гамазовых клещей, фоновые виды грызунов, контактирующие с природными очагами ОГЛ – полевки – экономка и красная. О вовлечении данных объектов в цикл циркуляции вируса на отдельных территориях свидетельствует генетическая идентичность изолированных от них штаммов вируса со штаммами, полученными от ондатр или больных людей. Эксперименты на искусственно и спонтанно инфицированных вирусом ОГЛ гамазовых клещах показывают возможность длительного (более полугода) сохранения и циркуляции возбудителя

в пределах гнездово-норового сообщества. При этом вирулентные свойства возбудителя могут снижаться с последующей реверсией. На присутствие вируса в популяциях иксодовых клещей в современный период указывает только наличие в структуре заболеваемости населения незначительного числа трансмиссивных случаев заражения ОГЛ. Это свидетельствует, во-первых, о крайне низкой вирусофорности иксодид в отношении вируса ОГЛ, во-вторых – о включении в цикл циркуляции этих организмов только на фоне высокой эпизоотической активности очагов. Это еще раз доказывает переоценку роли иксодид в первые годы исследования ОГЛ в циркуляции и резервации вируса, и позволяет предполагать первичную связь природных очагов возбудителя с водными, а не наземными экосистемами. Тем не менее, полученная к настоящему времени информация по биологии вируса ОГЛ не позволяет обозначить схему резервации вируса вне эпизоотического периода, а также оставляет открытым вопрос о происхождении вируса. В отношении возбудителя по-видимому предпочтительным является предположение о его автохтонном происхождении (Фолитарек, 1966), несмотря на отсутствие представлений об эволюционных механизмах и возможном прототипе (если признать, что ВКЭ таковым не является). Факты выявления микстинфицирования вирусами КЭ и ОГЛ сочленов циклов циркуляции из числа клещей, насекомых и млекопитающих (в т.ч. – ондатр) в условиях сочетанности природных очагов данных инфекций позволяют говорить как минимум о расхождении экологических ниш этих возбудителей.

Следует признать установленным, что вирус ОГЛ является самостоятельным геновидом в группе флавивирусов млекопитающих, передаваемых клещами. Несмотря на достаточно выраженный уровень консервативности, слабо зависящий от времени и источника изоляции, в пределах нозоареала можно выделить две генетически дифференцируемые группы штаммов (два геноварианта вируса). Следует отметить, что выявляются генетические различия в первичной структуре фрагментов генома штаммов вируса (гены E и NS5), изолированных из разных органов ондатр в пределах одной локальной эпизоотии, что, вероятно, связано с вирулентными свойствами штаммов.

Глава. 1.3. Клещевой энцефалит

Клещевой энцефалит (далее КЭ) – трансмиссивная вирусная инфекция человека, вызываемая вирусом клещевого энцефалита, поражающим центральную нервную систему, сопровождающаяся заболеванием с различной тяжестью течения – от стертого до тяжелых форм с очаговыми поражениями ЦНС, и летальностью от 1–2% на европейской территории РФ и в Сибири, до 30% на Дальнем Востоке (Леонова, 1997; Мефодьев и др., 2002; Волкова, 2009). Данная инфекция занимает второе место в патологии населения Российской Федерации (РФ) среди возбудителей с вирусной этиологией, уступая только геморрагической лихорадке с почечным синдромом (Мед. Вирусология, 2008, стр. 577–581). Вирус КЭ входит в состав отряда *Flaviviridae* семейства *Flavivirus*, группу флавивирусов млекопитающих, передающихся клещами, и в настоящее время включает не менее пяти подтипов (генотипов): европейский, дальневосточный, сибирский, байкальский, гималайский (Злобин, Львов, 2008; Верховина и др., 2011; Демина, 2013; Dai et al., 2018). Возбудитель является типичным арбовирусом, заражение человека которым происходит при кровососании переносчиков из числа пастбищных иксодовых клещей (взрослыми особями (имаго – самками и самцами), редко – неполовозрелыми фазами – нимфами). В редких случаях регистрируется алиментарное заражение при употреблении свежего сырого козьего молока. Внимание к проблеме и выявление заболеваемости населения КЭ на различных административных территориях Западной Сибири началось вскоре после открытия возбудителя данной инфекции на Дальнем Востоке в 1937 г. в результате исследований комплексной экспедиции под руководством Л.И. Зильбера (Зильбер, 1939). Именно им было высказано предположение об арбовирусной природе возбудителя.

Данная эпидемиологическая особенность определяет неоднородность динамики заболеваемости КЭ во времени, характеризующейся колебаниями ее уровня. Прямой зависимости уровня заболеваемости КЭ от уровня численности эпидемически значимых переносчиков не зарегистрировано,

что определяется ролью в данном процессе не только природных, но и факторов иного порядка (социальных и др.). Именно достаточно сложное (и потому трудно учитываемое) сочетание факторов разного уровня обеспечивает своеобразие эпидемической обстановки даже на рядом расположенных территориях с различным социально-экономическим уровнем развития, а как следствие этого – различную динамику заболеваемости.

История изучения клещевого энцефалита в Западной Сибири

С 1939 г. Н.В. Шубиным начато изучение КЭ в Томске, с 1941 г. Н.В. Платоновым и Д.И. Кумириным – в Новосибирской и Кемеровской областях, с 1947 г. – В.А. Штаркером и В.А. Зудовым – в Омской области. Первые случаи заболевания зарегистрированы: в Тюменской области – в 1944 г. (Столбов и др., 1970), в Алтайском Крае – в 1940 г. В Омской области спорадические случаи заболеваний КЭ диагностировались уже с 1938 г. (В.А. Штаркер и В.А. Зудов). Последующий анализ имеющихся клинических архивных материалов (г. Томск) позволил говорить о существовании эпидемически активных очагов КЭ в регионе по крайней мере за 150 лет до открытия возбудителя инфекции. Указывается, что ординатор Л.М. Орлеанский (1897 г.) описал больную с тяжелым лихорадочным заболеванием с осложнениями эпилептическими припадками с клоническими судорогами и атрофией шейно-плечевого отдела. В архиве клиники есть фото того периода с типичной полиомиелитической формой КЭ. Омороков Л.И. в период с 1918 по 1936 гг. наблюдал 100 случаев кожевниковской эпилепсии, а ординатором клиники Масловым М.А. в работе под названием «О полиомиелите у взрослых» была отмечена строгая весенне-летняя сезонность регистрируемого заболевания (по Шубину, 1956). Боржек Б.П. (1964) рассматривал кожевниковскую эпилепсию как неотъемлемую составляющую КЭ, однако Омороков Л.И. оспаривает однозначность связи данного синдрома с КЭ. В настоящее время в большинстве публикаций,

затрагивающих вопросы клинической диагностики КЭ, данный синдром не упоминается в качестве диагностического критерия. На различных административных территориях Западной Сибири (Курганская, Тюменская, Омская, Новосибирская, Томская обл. и ХМАО-Югра) начало официальной регистрации заболеваемости КЭ относится к периоду 1950–1962 гг. Так в Омской области – с 1953 г. (Филатова, Швабауэр, 1962), в Кемеровской и Новосибирской – с 1955 г. (Дубровский и др., 1961), в Алтайском Крае – с 1952 г. (Веселов и др., 1962). Только для Тюменской области начало постоянной регистрации заболеваемости КЭ относится к более раннему периоду – 1947 г. (Шубин, 1956).

В процессе расширения интереса к данной инфекции и увеличения диагностических возможностей, в 50–60-х гг. прошлого века характер локализации очагов КЭ на различных административных территориях региона в целом был установлен. Так, к 1961 г. заболеваемость КЭ была установлена в 11 районах (28 населенных пунктах) Тюменской области (Тимлер, 1961), а к концу 60-х гг. XX века (Столбов и др., 1970) в южной тайге заболеваемость регистрировалась уже повсеместно (наиболее напряженные – Вагайский, Уватский, Тобольский и Ярковский р-ны), включая редкие случаи заражения людей на левом берегу Тобола; в подтаежной зоне – в девяти административных районах (от Тюменского, Ялуторовского, Исетского и Заводоуковского на западе до Абатского и Ишимского на востоке, с единичными случаями в Викуловском районе). В районах северной лесостепи Тюменской области до 1969 г. заболеваемость КЭ не регистрировалась, после этого стала носить характер единичных случаев в Бердюжском и Сладковском районах (Столбов и др., 1970, Филатов и др., 1974).

В Омской области рост заболеваемости отмечен в урмано-болотной подзоне тайги с 1953 г. (до этого – единичные случаи) с вкладом трех районов. Дальнейший рост приходится на период с 1953 по 1961 гг. (Филатова, Швабауэр, 1962, Перевезев, 1969, 1970), происходящий за счет включения новых районов, где ранее заболеваемость не регистрировалась.

В частности с 1959 г. Знаменский район вошел в список эндемичных по КЭ, а к 1961 г. вышел в лидеры. В подтаежной зоне на территории Седельниковского района регулярная заболеваемость КЭ стала регистрироваться с 1959 г. Первые случаи КЭ среди местного населения лесостепных районов области, отмеченные в научной литературе, приходятся на 1959–1960 гг. (Филатова, Швабауэр, 1961); по данным санэпидслужбы – на 1955 г.

В Новосибирской области начало официальной регистрации приходилось на 1961 г. (от 137 до 264 случаев), и к концу 60-х гг. XX века КЭ регистрировался на 13 административных территориях области. Значительный вес в структуре заболеваемости приходился на Болотнинский, Искитимский, Маслянинский и Сузунский р-ны, т.е. Приобье (Заломаев, 1970).

В Томской области (Тюшнякова, 1956) заболеваемость КЭ была выявлена в Томском, Кожевниковском, Тегульдетском, Шегарском и Туганском районах, серологически наличие заболеваемости подтверждено практически на всей территории области. В средней тайге до 1974 г. единичные случаи заболевания КЭ регистрировали только в Александровском р-не Томской обл., Кондинском и Ханты-Мансийском районах ХМАО Тюменской области (0,8–1,0 на 100 тыс.).

Географическое распространение и генетическое разнообразие вируса клещевого энцефалита в Западной Сибири

Как отмечалось выше, ВКЭ входит в состав рода *Flavivirus* достаточно обширного семейства вирусов – *Flaviviridae*, в отдельную группу вирусов – флавивирусы млекопитающих, передаваемых клещами (или – по старой классификации – вирусов комплекса КЭ). В составе данной группы вирусов, кроме возбудителя КЭ, входят еще не менее семи, имеющих самостоятельный видовой статус, из которых вирус омской геморрагической лихорадки наиболее близок ВКЭ, чем и объясняется сложность их дифференциации на протяжении всего времени изучения данных возбудителей.

Геном вируса КЭ, как и у всех представителей данного семейства вирусов, представлен несегментированной одноцепочечной РНК положительной полярности. Нуклеокапсид, представляющий собой связанную с капсидным белком (С) вирусную РНК, окружен двуслойной липидной оболочкой, заимствованной у клетки-хозяина, в которой интегрированы два вирусных гликопротеина – мембранный (М) и оболочечный (Е) белки, что также является типичным для вирусов данного семейства (Tikhomirova et al., 1971; Gritsun et al., 2003). Вирусная РНК флавивирусов представлена кодирующей областью (~ 10242 н.) и короткими 5'- и 3'-концевыми нетранслируемыми участками. Вирусная РНК кодирует в пределах основной рамки считывания структурные (капсидный – С, белок-предшественник мембранного белка – ргеМ, и оболочечный – Е) и неструктурные (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B and NS5) вирусные белки (Lindenbach, Rice, 2003). Функциональное значение всех неструктурных белков флавивирусов не определено, но указывается на их существенное значение в репродукции (NS5 – кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу) и сборке (напр., NS1) вируса в клетке.

Вопрос о политипичности вируса КЭ возник на фоне изучения биологических свойств штаммов ВКЭ, изолированных из различных частей нозоареала возбудителя, в результате чего было показано наличие двух субтипов вируса – западного (II) и восточного (I) (Кларк, 1964). В дальнейшем (Погодина и др., 1981) при изучении ряда биологических свойств вируса КЭ серотипа Айна, изолированного от больной в Иркутской области, было продемонстрировано отличие данного изолята от первого (восточного) и второго (западного) субтипов.

Прогресс в изучении гетерогенности состава возбудителей КЭ был достигнут в 80-х гг. XX века с внедрением молекулярно-генетических методов (Дрокин и др., 1994; Шаманин и др., 1990). Началу применения данной группы методов послужила расшифровка геномов ВКЭ (Плетнев и др., 1989; Сафронов и др., 1991; Mandl et al., 1988, 1989). Применение метода молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК, Маниатис и др., 1984) позволило, во-первых, выделить три широко

распространенных субтипа ВКЭ в РФ – европейского (Евр-ВКЭ, соответствовавшего второму субтипу ВКЭ по предшествовавшей – биологической, – классификации), дальневосточного (ДВ-ВКЭ – соответствует первому субтипу) и сибирского (новый субтип), а также показать наличие достаточно широкой вариабельности отдельных участков генома вируса КЭ в пределах отдельных субтипов (Вотяков, и др., 2002; Злобин и др., 2003).

Следующий этап исследований генетической вариабельности ВКЭ связан с широким внедрением в методику исследований ОТ-ПЦР с последующим секвенированием продуктов амплификации. В результате этих исследований было показано абсолютное доминирование в структуре циркулирующих в регионе штаммов ВКЭ сибирского субтипа над дальневосточным (Злобин и др., 2001 а, б). Присутствие ВКЭ европейского субтипа в равнинной части Западной Сибири на тот момент исследований установлено не было. Вторым существенным результатом данных исследований являлось указание на отсутствие связи между географической удаленностью и «филогенетическим» сходством изолятов, относящихся к разным геновариантам сибирского субтипа (Злобин и др., 2001 а, 2007). Было установлено наличие как минимум двух генетических групп (геновариантов) в пределах сибирского субтипа ВКЭ.

В связи с этим возник вопрос о взаимной видовой самостоятельности выявляемых субтипов, или это – внутривидовые вариации единой формы. Последующие исследования, основанные на молекулярно-биологических и вирусологических (экспериментальных) методах (Погодина и др., 2007), позволяют рассматривать выявляемые субтипы ВКЭ как самостоятельные геновиды ВКЭ. В связи с неустоявшейся терминологией межвидовой и внутривидовой дифференциации вирусов (субтипы, генотипы, геновиды и др.) рассматривается вопрос о применимости критериев квазивида для данной группы живых существ (подробнее – см. раздел 3).

Дальнейшим развитием этих методических подходов послужило широкое внедрение в практику исследований ПЦР

в режиме реального времени. Не вдаваясь в методические аспекты применения разных вариантов ПЦР и возникающие в этой связи вопросы интерпретации результатов, нами поставлена задача сведения в единый информационный блок полученных к настоящему времени результатов, отражающих генетическое разнообразие и характер пространственного распределения различных субтипов и геновариантов ВКЭ в Западной Сибири.

В настоящее время кроме трех основных и широко распространенных субтипов вируса КЭ – дальневосточного, европейского и сибирского, описано еще три новых субтипа вируса – два в Прибайкалье (Demina et al., 2010; Верховина и др., 2011; Демина и др., 2012), один из которых получил название «Байкальский», и один – на Тибете (Dai et al., 2018).

В Западной Сибири в настоящее время регистрируется три основных субтипа (дальневосточный, европейский и сибирский) с абсолютным доминированием сибирского субтипа, представленного несколькими геновариантами (генетическими линиями). Интересно отметить находку в клеще *I. pavlovskiy* с территории Новосибирского Научного Центра изолята в КЭ (KY002870), принадлежащего предполагаемому новому, Байкальскому субтипу ВКЭ (Demina et al., 2010; Kozlova et al., 2018). Ранее представители данного субтипа, выделенные из клещей *I. persulcatus* и мелких млекопитающих, были описаны только в Восточной Сибири, в районе озера Байкал. Таким образом, это является первой находкой ВКЭ данного предполагаемого субтипа в Западной Сибири (Tkachev et al., 2017).

Европейский субтип (рис. 1.3.1, 1.3.2) достаточно регулярно выявляется на Правобережном Приобье (Ткачев и др., 2011; Морозова и др., 2014), в том числе – в таежных клещах на Салаире в пределах Тогучинского района Новосибирской области (2011 г.), в Алтайском Крае, что, вероятно, связано с особенностями распространения ВКЭ восточнее р. Обь – ранее (Вотяков и др., 2002) вирус данного субтипа выявлялся в пределах Алтае-Саянской горной страны. При последующих исследованиях вирус европейского субтипа выявлялся

на территории Республики Алтай в Кош-Агачском районе в 1990–1991 и 2010 гг. в безиксодовых очагах среднегорий на высотах более 2000 н.у.м. (Якименко и др., 2015), в 2007 г. – в таежных клещах с территории Майминского района (коды доступа в GeneBank и EMBL – Altay-103 JQ687275 и Altay-84.2 NM120875). Также, было описано выявление двух изолятов Евр-ВКЭ в клещах *I. pavlovskyi* с территории Шебалинского района Республики Алтай (Tkachev et al., 2017).

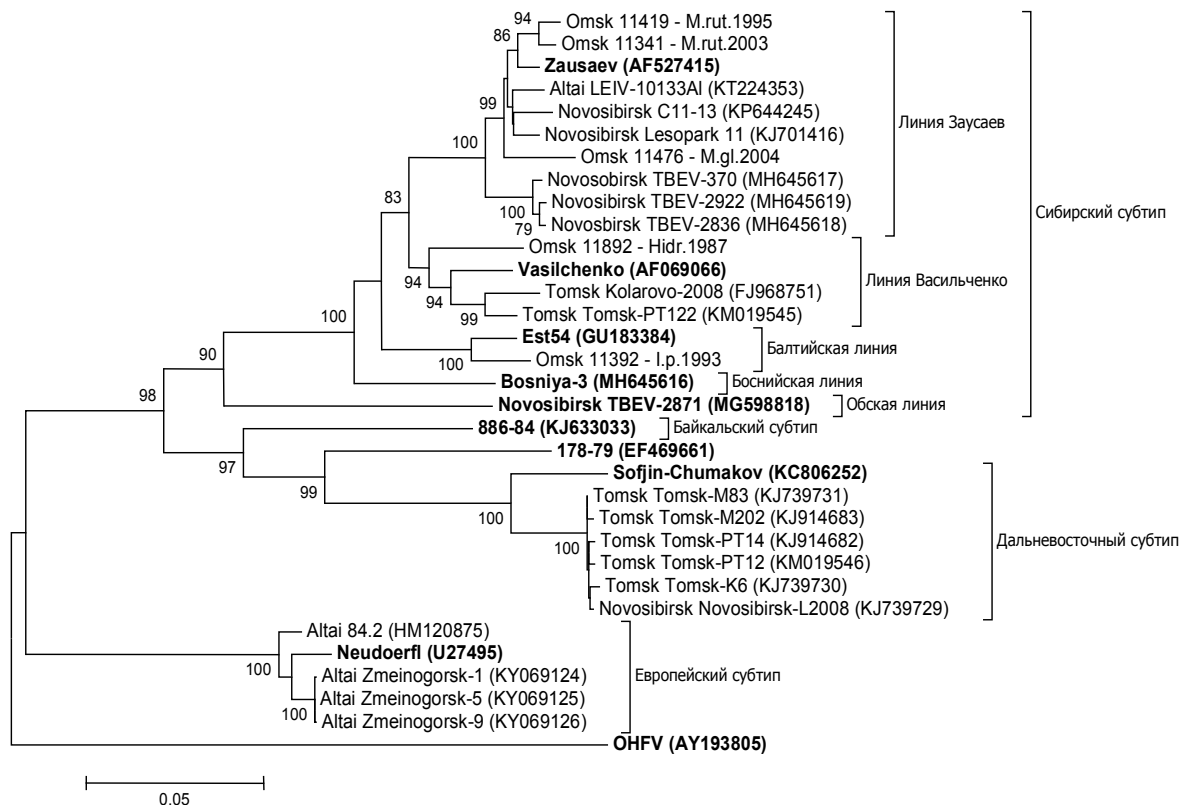


Рис. 1.3.1. Дендрограмма штаммов ВКЭ, построенная на основании нуклеотидных последовательностей кодирующей части генома ВКЭ методом максимального правдоподобия (maximum likelihood). Значимость построенного дерева оценивалась с помощью бутстреп-анализа с 1000 репликаций. Значения индекса поддержки узлов ниже 75 скрыты. Перед названием каждого штампа указано место изоляции. В скобках указан номер доступа (для последовательностей из GenBank). Прототипные штаммы разных субтипов и вирус ОГЛ выделены жирным.

Сокращения в названиях источников изоляции штаммов:

M.rut. – красная полевка;

Hidr. – гидробионты;

M.gl. – рыжая полевка;

I.p. – таежный клещ.

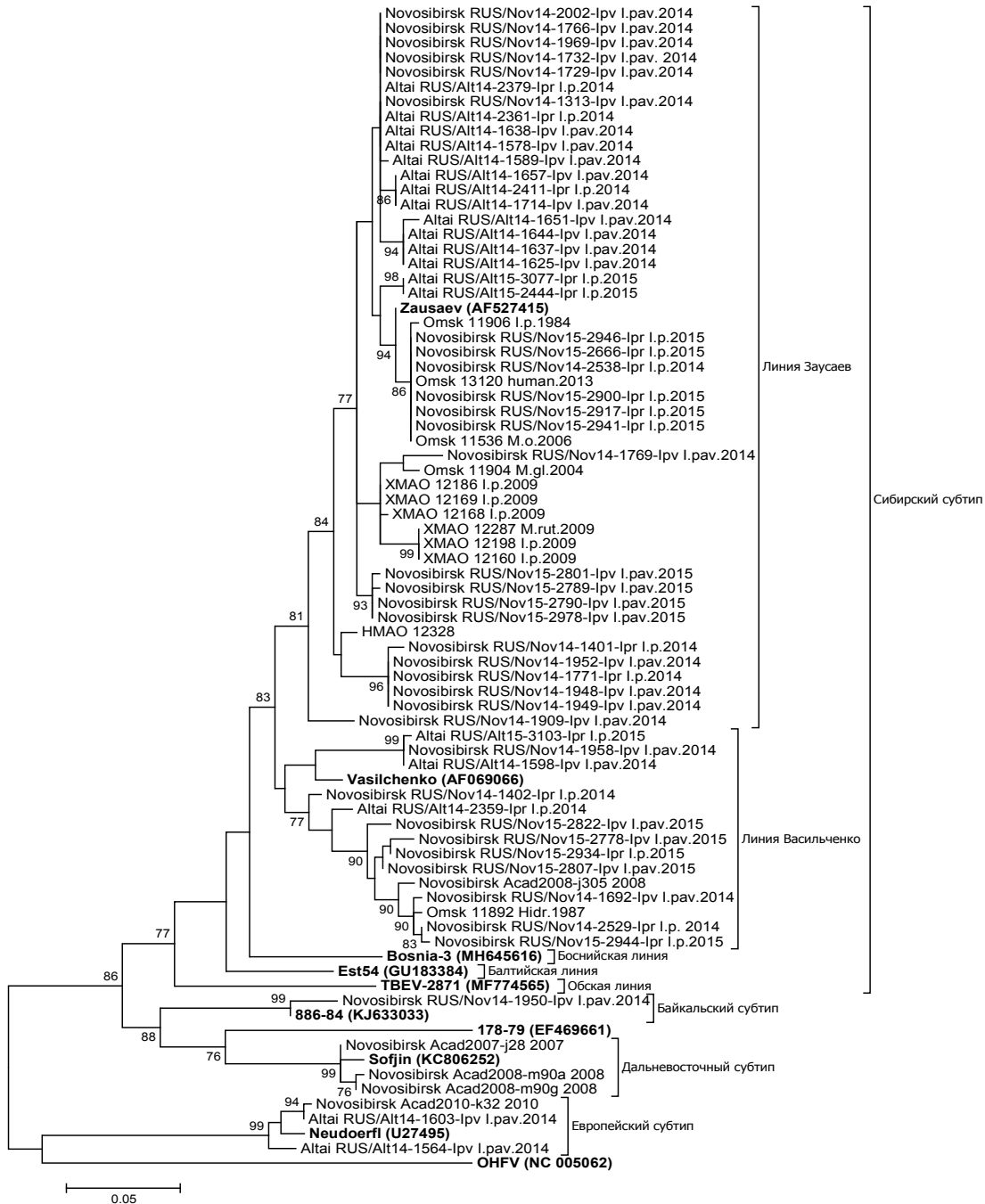


Рис. 1.3.2. Дендрограмма штаммов ВКЭ, построенная на основании нуклеотидных последовательностей фрагмента генов E и NS1 ВКЭ (297 н.о.) методом максимального правдоподобия (maximum likelihood). Значимость построенного дерева оценивалась с помощью бутстреп-анализа с 1000 репликаций. Значения индекса поддержки узлов ниже 75 скрыты.

Перед названием каждого штамма/изолята указано место изоляции. В скобках указан номер доступа (для последовательностей из GenBank). Прототипные штаммы разных субтипов/линий и вирус ОГЛ выделены жирным. Сокращения в названиях источников изоляции штаммов:

M.rut. – красная полевка; M.gl. – рыжая полевка;
 M.o. – полевка-экономка; Hidr. – гидробионты; I.p. – таежный клещ;
 I.pav. – *I.pavlovskiy*.

В равнинной части Западной Сибири штаммы ВКЭ европейского субтипа были изолированы в Алтайском Крае (Змеиногорский и Угловский районы), в Омской (Знаменский (2007 г. – из таежного клеща), Тарский (1990 г. – из *Ixodes trianguliceps*) и Тюкалинский районы (2007 г. – из таежного и лугового клещей) и в Тюменской (2006 г. – из органов узкочерепной полевки) областях. Штаммы возбудителей, изолированные от иксодовых клещей (Змеиногорский р-н Алтайского Края), показали высокий уровень гомологии (99 % по гену E) со штаммами различного времени изоляции из Карелии, РФ (Абсеттаров), Финляндии и Эстонии (Ткачев и др., 2014; Demina et al., 2017; Козлова и др., 2017), и формировали отдельный от изолятов из Восточной Сибири кластер. Исследования штаммов вируса КЭ, изолированных в западных предгорьях Салаира (равнинная часть Тогучинского района Новосибирской области) в 60-е гг. XX века из иксодовых клещей, из крови и ликвора больных КЭ также показали наличие в их структуре вируса европейского субтипа.

Дальневосточный субтип (рис. 1.3.1.–1.3.3.) присутствует в исследуемых выборках штаммов: с правобережного Приобья Новосибирской (Ткачев и др., 2009, 2011) и Кемеровской областей (Колясникова и др., 2009); из Томской области; Зауралья (Курганская обл., Погодина и др., 2007; наши данные – 1992 г.); с территории северной лесостепи Омской (Тюкалинский район, 1990, 1991 г.) и Новосибирской (Карасукский (1989 г.), Венгеровский (1991 г.) и Усть-Тарский (1991) районы) областей; из боровой степи на территории Угловского района Алтайского Края (2014 г.). При исследовании крови больных КЭ с различными формами и тяжестью заболевания (Ткачев et al., 2008; Ткачев и др., 2009), заразившихся в лесопарковой зоне г. Новосибирска в период 2003–2004 гг., выявлялась РНК вируса КЭ дальневосточного субтипа (наряду с индикацией РНК вируса сибирского субтипа). Исследование штаммов ВКЭ с территории Тогучинского района Новосибирской области, изолированных от иксодовых клещей и больных людей в 60-х гг. прошлого века также показывают наличие в структуре патогенов вируса дальневосточного субтипа, а частота индикации позволяет предполагать, что роль данного субтипа вируса в региональной инфекционной патологии населения на тот момент времени был значительно существеннее, чем в XXI веке.

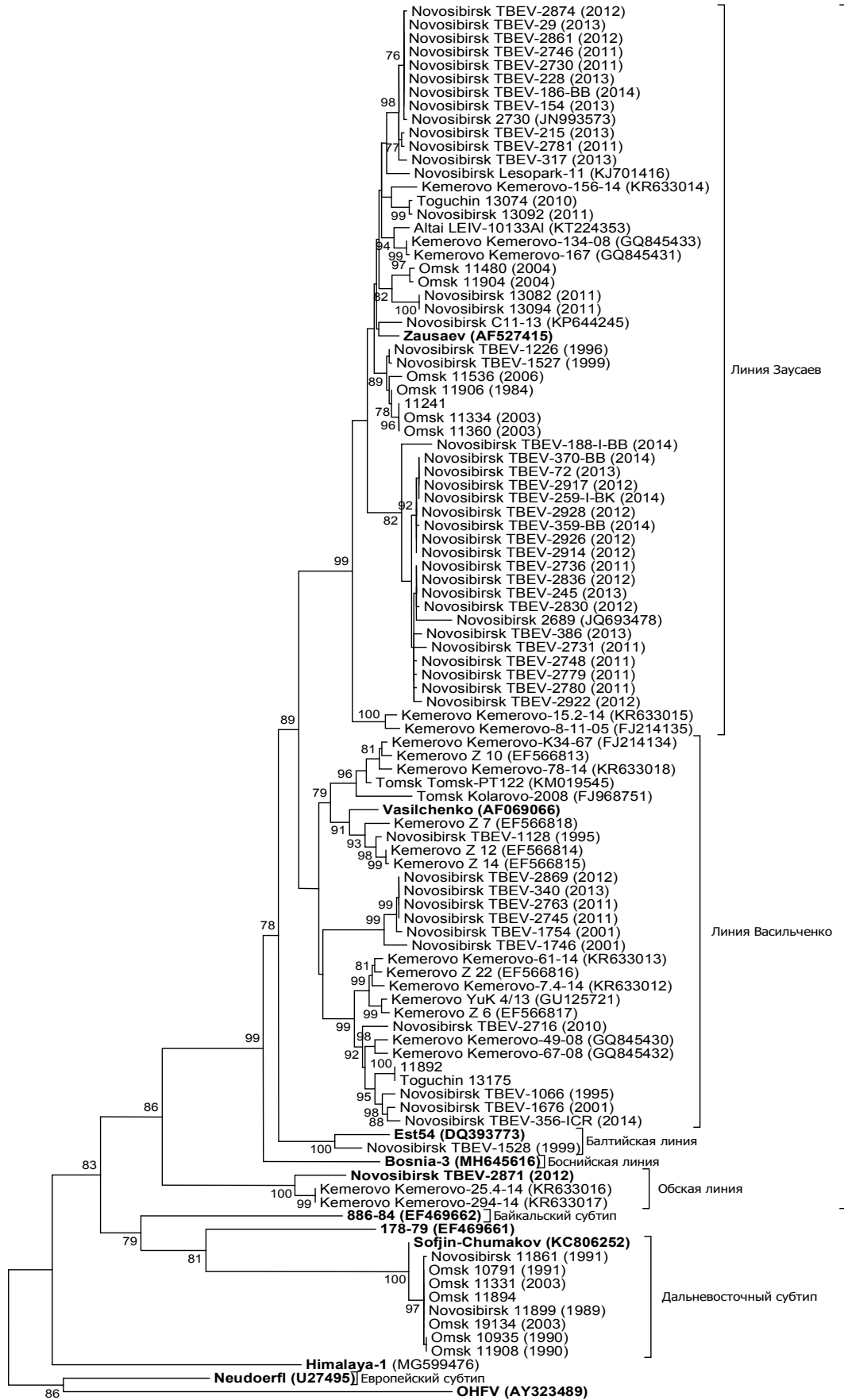


Рис. 1.3.3. Дендрограмма штаммов ВКЭ, построенная на основании нуклеотидных последовательностей фрагмента гена E ВКЭ (1053 н.о.) методом максимального правдоподобия (maximum likelihood).

Примечание: Значимость построенного дерева оценивалась с помощью бутстреп-анализа с 1000 репликаций. Значения индекса поддержки узлов ниже 75 скрыты. Перед названием каждого штамма указано место изоляции. В скобках указан номер доступа (для последовательностей из GenBank), либо год выделения (для штаммов, использованных в данной работе). Прототипные штаммы разных субтипов и вирус ОГЛ выделены жирным.

Как указывалось выше, в пределах Западной Сибири абсолютно доминирует сибирский субтип ВКЭ (см. рис. 1.3.1–1.3.3). Так, в лесостепи Новосибирской, Омской и Курганской областей, различных районах в подтайге и южной тайге Омской области, средней тайге ХМАО-Югра, как среди изолятов ВКЭ, полученных в биопробе на лабораторных животных и исследованных впоследствии методами молекулярно-генетического анализа, так и при непосредственной индикации возбудителя в иксодовых клещах и (или) органах диких млекопитающих в ПЦР, в абсолютном большинстве случаев регистрировался Сиб-ВКЭ. В настоящее время в регионе показано наличие четырех генетических линий данного субтипа – Балтийской, Васильченко, Заусаев, и Обской (Ткачев и др., 2009; Tkachev et al., 2017). При этом на данный момент Обская линия была обнаружена только в Западной Сибири и только в Новосибирской и Кемеровской областях (Tkachev et al., 2017). Кроме того, штаммы Сиб-ВКЭ геноварианта Васильченко на основании первичной структуры двух генов (E и NS1) разделяются на два кластера, что характеризует неоднородность данной группы. Возможно, большое разнообразие генетических вариантов Сиб-ВКЭ, распространенных в Западной Сибири, может частично объяснить более высокий показатель распространенности клещевого энцефалита в этом регионе по сравнению с большинством регионов Евразии.

В пределах территории региона выявляются определенные закономерности распределения геновариантов (генетических линий) ВКЭ сибирского субтипа. Так установлено, что на территории Зауралья, средней тайги ХМАО-Югра, южной тайги Омской области в структуре циклов преобладает Сиб-ВКЭ геновариант «Заусаев». В пределах территории доминирования варианта «Заусаев» штамм Сиб-ВКЭ геноварианта «Васильченко» (см. рис. 1.3.2) изолирован в 1987 г. в северной лесостепи Омской области от гидробионтов в зоне сочетанности природных очагов КЭ и ОГЛ.

Вирусы геноварианта «Васильченко» абсолютно доминируют на восточных территориях региона (Томская и Кемеровская области, правобережное Приобье Новосибирской области, Алтайский Край).

Обская линия, как отмечено выше, выявлена только на территории Приобья. Штаммы ВКЭ, отнесенные к балтийской линии (см. рис. 1.3.1 и 1.3.3), изолированы только в Омской области (в подзоне южной тайги) и на правобережном Приобье в Новосибирской области в 90-х гг. прошлого века. Пути проникновения или резервации данного европейского варианта вируса в Западной Сибири остаются неясными (впрочем, как и значение данных находок с эпидемиологических позиций). Один из штаммов Сиб-ВКЭ, изолированный от таежного клеща из южной тайги Омской области (2007 г.), занимает самостоятельное положение и относится к «балтийскому» геноварианту Сиб-ВКЭ.

По-видимому, присутствие вируса КЭ трех основных субтипов характерно для большей части территории Западной Сибири, несмотря на выявляемое доминирование Сиб-ВКЭ. Смена или (как минимум) появление в эпидемическом цикле другого субтипа ВКЭ могут быть связаны с популяционными циклами прокормителей переносчиков, приводящими к сезонным количественным изменениям в структуре группировок прокормителей (напр., смена доминантов и субдоминантов в структуре фауны грызунов). Именно на эту мысль наталкивают результаты экспериментов (Чичерина и др., 2014),

демонстрирующих различную селективную роль красной полевки и полевой мыши в отношении субтипов ВКЭ, играющих существенное значение в прокормлении личинок и нимф иксодовых клещей в лесопарковой зоне г. Новосибирска (Панов, 2011). Исследования крови и органов мелких млекопитающих из природных очагов КЭ в лесопарковой зоне г. Новосибирска (Бахвалова и др., 2011) демонстрируют содоминирование (от 30 до 80 %) ДВ-ВКЭ и Сиб-ВКЭ, с единичными случаями Евр-ВКЭ – как пишут – «...в зависимости от вида, фазы популяционного цикла и сезона года...». В этом отношении селективная роль разных видов позвоночных должна заключаться в поддержании или элиминации из цикла циркуляции того или иного субтипа ВКЭ. То есть наличие в структуре цикла видов-амплификаторов (Чунихин и др., 1982), с достаточной для поддержания существования вируса восприимчивостью и высоким уровнем вирусемии, и видов-супрессоров, невосприимчивых или имеющих недостаточный уровень восприимчивости к данному возбудителю (субтипу, геноварианту), и не формирующих достаточный уровень вирусемии, может детерминировать на тех или иных этапах популяционных циклов структуру очага инфекции и уровни его эпидемической и эпизоотической активности. Подробнее данный вопрос будет рассматриваться в ниже.

Общая характеристика динамики заболеваемости населения Западной Сибири

Характер многолетней динамики заболеваемости населения различных административных территорий западносибирского региона КЭ (рис. 1.3.4.) свидетельствует о существенном вкладе Западной Сибири в структуру заболеваемости клещевым энцефалитом населения страны. Для всех

административных территорий региона с конца 70-х гг. прошлого века наблюдается устойчивый тренд роста заболеваемости, продолжавшийся до конца XX века. Лидером, в силу своего ландшафтно-географического положения, является Томская область. С середины 80-х годов XX века абсолютно на всех административных территориях региона, расположенных в пределах северной подзоны лесостепи, отмечался резкий рост заболеваемости местного населения КЭ (рис. 1.3.5). В первом десятилетии XXI века отмечено снижение заболеваемости на территориях в пределах известного нозоареала инфекции. Вместе с тем, в начале XXI века имеет место некоторое расширение нозоареала за счет включения новых территорий, на которых ранее заболеваемость не регистрировалась (рис. 1.3.6).

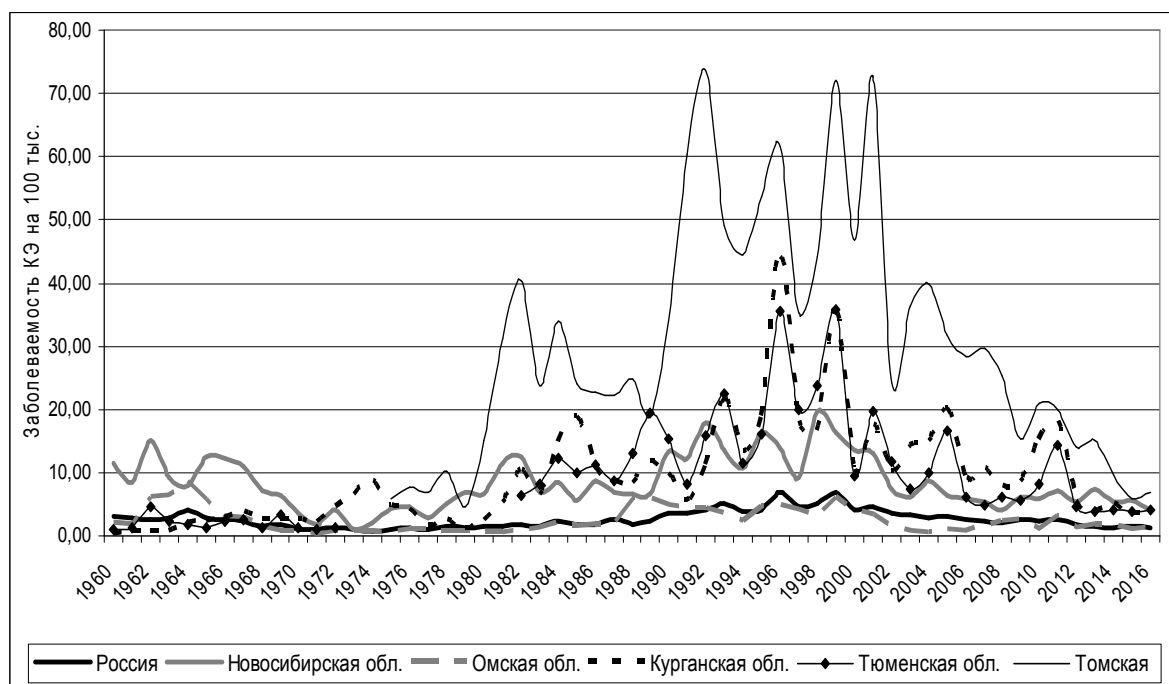


Рис. 1.3.4. Динамика заболеваемости населения КЭ на различных административных территориях равнинной части Западной Сибири (по данным официальной регистрации).

Примечание: данные по заболеваемости в Тюменской области за 1973–1980 гг. отсутствуют.

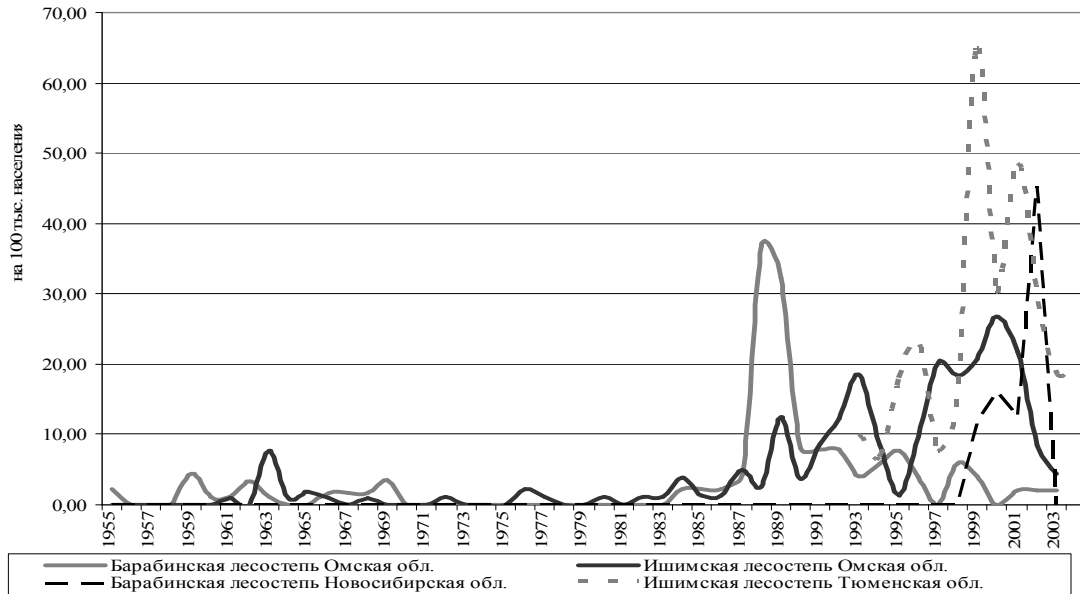


Рис. 1.3.5. Динамика заболеваемости населения КЭ на лесостепных территориях равнинной части Западной Сибири. Усредненные (на основании данных официальной регистрации) показатели заболеваемости на группах административных территорий (Ишимская лесостепь Омской области – 3 района, Тюменской области – 4 района; Барабинская лесостепь Омской области – 2 района, Новосибирской области – 2 района).

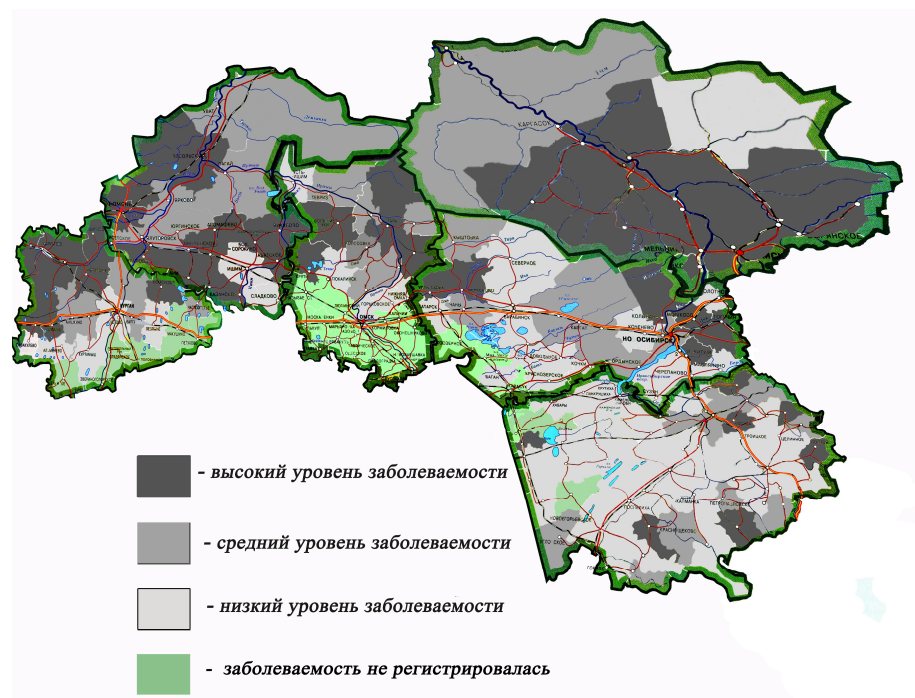


Рис. 1.3.6. Заболеваемость населения клещевым энцефалитом равнинной части Западной Сибири (2000–2016 гг.) по данным официальной регистрации. Высокий уровень заболеваемости – более 7,7 случаев на 100 тыс. населения; средний – 3,6–7,7 случаев на 100 тыс. населения; низкий – менее 3,6 случаев на 100 тыс. населения.

Томская область (анализируемый период: 1975–2003 гг.). Данная административная территория региона вносит наиболее значимый вклад в структуру заболеваемости населения Западной Сибири клещевым энцефалитом. Практически вся территория области, за исключением двух районов (Александровского и Верхнекетского) может быть отнесена в зоне высокого риска заражения клещевым энцефалитом, что отличает данный регион от остальных административных территорий Западной Сибири.

Устойчивый тренд роста заболеваемости населения в области отмечен с конца 70-х гг. прошлого века. Из 15 районов области двух – пятикратный рост заболеваемости был зарегистрирован в 13 (в двух не изменился). В последнее десятилетие XX века среднеобластной показатель заболеваемости вырос в два с лишним раза (с $20,4 \pm 2,8$ в 70–90-х гг. до $51,2 \pm 4,0$ случаев/100 тыс.), что превышало среднероссийский ($1,7 \pm 0,1$ и $4,5 \pm 0,3$ соответственно) в десять и более раз. К концу XX века в десяти районах число лет с отсутствием регистрации заболеваемости резко сократилось, в пяти – изменилось несущественно. Последнее характерно для районов со стабильно высоким уровнем заболеваемости. Тренд снижения заболеваемости, характерный для начала XXI века, имеет место и в Томской области, но заболеваемость КЭ сохраняется на высоком уровне, с практически десятикратным (за последние 15 лет) превышением среднего по РФ ($21,2 \pm 0,6$ и $2,3 \pm 0,6$ случаев/100 тыс. соответственно).

Новосибирская область (анализируемый период: 1960–2016 гг.). Среднемноголетний показатель заболеваемости в Новосибирской области за анализируемые временные интервалы в два-три раза превышал среднероссийский за те же периоды ($1,85 \pm 0,2$ – $3,47 \pm 0,37$ – $2,45 \pm 0,2$ случаев/100 тыс.) и составлял соответственно $6,88 \pm 0,85$ – $11,5 \pm 0,92$ – $6,57 \pm 0,52$ случаев/100 тыс. населения.

Омская область (анализируемый период: 1960–2016 гг.). С середины 80-х гг. прошлого века регистрировался устойчивый

(20-кратный и более) рост заболеваемости населения КЭ на территории 13 (из 15) эндемичных по КЭ районов области (двух и четырехкратное снижение отмечалось соответственно в Знаменском и Усть-Ишимском районах). Число лет с отсутствием регистрации случаев заболевания на практически всех территориях сократилось в 1,5–20 раз. Исключение составил Усть-Ишимский район, где количество лет с отсутствием заболеваемости увеличилось с трех в 1960–1980 гг. до десяти в 1980–2003 гг. Статистический анализ временных рядов данных по заболеваемости за два указанных периода позволяет предполагать, что характер причин, определяющих регистрируемые уровни заболеваемости (несмотря на подъем), в пределах каждой анализируемой административной территории области оставался однотипным. После 2000 г. 1,5–7-кратное снижение уровней заболеваемости отмечено на 13 (из 15) административных районах области, эндемичных по КЭ, на двух территориях (Саргатский и Омский районы) уровни заболеваемости не изменились. Вместе с тем, спорадическая заболеваемость в данный период времени зарегистрирована в шести административных районах лесостепной ландшафтной зоны, чего ранее не отмечалось. Изменение числа лет с отсутствием регистрации заболеваемости в пределах разных административных районов имело самостоятельный характер: в семи районах произошло сокращение числа таковых, в шести – рост (наиболее выраженный – в четырех лесостепных районах), в двух (Тарский и Муромцевский) – не изменилось. Среднемноголетний показатель заболеваемости в области за анализируемые временные интервалы не имел достоверных отличий от среднего показателя заболеваемости за те же периоды времени по РФ и варьировал в пределах $2,24 \pm 0,53$ – $3,20 \pm 0,36$ и $1,63 \pm 0,20$ случаев/ 100 тыс. соответственно.

Курганская область (анализируемый период: 1970–2015 гг.). Как и для большинства областей Западной Сибири, в 80-х гг. XX века отмечен устойчивый тренд роста

заболеваемости населения области КЭ. К концу XX века в 16 (из 18) эндемичных по КЭ районах области отмечен 1,5–10-кратный рост заболеваемости населения, за исключением Шадринского района, где средний уровень не изменился, и Целинного, где регистрация прекратилась. В начале XXI века в 12 (из 18) районах произошло снижение уровня заболеваемости населения КЭ, в том числе в двух регистрациях полностью прекратилась, в шести районах – не изменилось. К концу XX века в большинстве эндемичных районов области число лет с отсутствием регистрации заболеваемости КЭ сократилось от двух до семи раз, за исключением пяти районов, где этот показатель не изменился или изменился незначительно. В начале XXI века за исключением двух районов (Далматовского и Каргапольского) повсеместно наблюдался рост числа сезонов с отсутствием регистрации заболеваемости населения клещевым энцефалитом. Средне-многолетний показатель заболеваемости в области за анализируемые временные интервалы в четыре и более раз превышал таковой по РФ и составлял $6,92 \pm 1,05$ – $17,1 \pm 2,3$ – $11,0 \pm 1,45$ случаев/ 100 тыс.

Таким образом, за исключением Омской области, заболеваемость КЭ в других областях региона многократно превышает средние общероссийские показатели, что подтверждает тезис о ведущем значении региона в структуре заболеваемости в РФ. Тенденции развития заболеваемости клещевым энцефалитом населения крупных административных территорий (областей) в пределах региона Западной Сибири за анализируемый (с 1960 г.) период имеют общие черты. Это происходит, несмотря на существенные различия в динамике заболеваемости в пределах административных территорий отдельных областей (что подтверждается результатами дискриминантного анализа), и это прослеживается на протяжении всего периода наблюдений за данной инфекцией. Наилучшая дискриминация была получена для районов Томской области (вероятность ошибочного объединения в группу – $p=0,05$), возможно – из-за относительной ландшафтно-климатической однородности ее территории.

В то время как для Курганской и Омской областей дискриминация оказалась хуже ($p=0,11$), т.е. различий в динамике заболеваемости в этих областях меньше, возможно из-за действия общих для двух областей факторов, влияющих на заболеваемость.

Корреляционный анализ заболеваемости в разрезе отдельных районов субъектов РФ, расположенных в границах равнинной части Западной Сибири, выявил только единичные случаи значимой корреляции временных рядов (коэффициент корреляции >0.8). Выявленные распределения районных годовых показателей заболеваемости оказались близки к нормальному, при этом отклонение от нормального распределения увеличивается в годы пиковой заболеваемости. Это соответствует данным о том, что в разных фазах эпидемического процесса структура частотных спектров может меняться: спектры – многочастотные, с наличием короткопериодных колебаний выявляются при низких уровнях заболеваемости, что истолковывается как несогласованное взаимодействие компонентов очага; спектры – одно-, двухчастотные – при высоких уровнях заболеваемости, что типично для синхронизированных многокомпонентных процессов. Несмотря на выраженные различия в уровнях заболеваемости населения на административных территориях региона, можно предполагать, что факторы, влияющие на динамику заболеваемости, в целом имеют общие черты в пределах всей равнинной части Западной Сибири и воздействуют сходным образом. Анализ данных показывает наличие коинтеграции для рядов заболеваемости во многих районах изучаемых областей. Это предполагает наличие общих определяющих факторов, влияющих на развитие эпидемического процесса в разных административных районах. Факторы, имеющие биотическую природу, можно оценить, по некоторым параметрам – не только качественно, но и количественно. Их совокупность определенно будет зависеть от ландшафтных и иных природно-климатических условий на территории как субъектов федерации в целом, так и в пределах административных территорий субъектов.

Анализ заболеваемости клещевым энцефалитом на территориях с различной ландшафтной приуроченностью

Нозоареал КЭ в Западной Сибири охватывает четыре ландшафтные подзоны – северную лесостепь, подзону мелколиственных лесов (подтайгу), южную и среднюю тайгу. Выделенные ландшафтные подзоны существенно отличаются друг от друга по сочетанию природных и социальных факторов эпидемического процесса КЭ и поэтому рассматриваются отдельно. Кроме того, при проведении анализа динамики заболеваемости на ряде административных территорий нескольких областей (таблица 1.3.1), данные по заболеваемости были объединены по принципу полного их расположения в пределах указанной ландшафтной зоны. Наличие в причинах регистрируемых уровней заболеваемости населения на отдельных административных территориях региона двух групп факторов – природных и социальных – делает бесперспективными попытки прогнозирования уровней заболеваемости в границах административных территорий, расположенных в нескольких ландшафтных зонах. С другой стороны, сходство природно-климатических и ландшафтных условий на отдельных административных территориях или их части позволяет выявить периодичность в варьировании уровней заболеваемости, что, в свою очередь, дает надежды на возможность прогнозирования уровня заболеваемости.

Таблица 1.3.1. Ландшафтная приуроченность эндемичных по КЭ административных территорий Западной Сибири и период наблюдений за заболеваемостью населения КЭ (данные официальной регистрации заболеваемости населения КЭ)

№ групп	Ландшафтные зоны	Субъект РФ	Муниципальные районы	Период наблюдений	
1	Лесостепь	Курганская область	Частоозерский	1960–2003	
2			Омская область	Крутинский	1960–2003
				Тюкалинский	1960–2003
				Саргатский	1960–2003

Продолжение таблицы 1.3.1.

№ групп	Ландшафтные зоны	Субъект РФ	Муниципальные районы	Период наблюдений
3	Южная тайга	Курганская область	Далматовский	1958–2006
			Шадринский	1958–2006
			Шатровский	1958–2006
4		Омская область	Знаменский	1953–2003
			Тевризский	1953–2003
5		Томская область	Бакчарский	1975–2003
	Чаинский		1975–2003	
6	Средняя тайга	ХМАО	Нефтеюганский	1990–2005
			г. Нефтеюганск	1990–2005
			Ханты-Мансийский	1990–2005
			г. Ханты-Мансийск	1990–2005
7		ХМАО	Нижневартовский	1990–2005
			г. Нижневартовск	1990–2005
		Томская область	Александровский	1975–2003

Северная лесостепь. В очагах КЭ северной лесостепи Омской и Курганской областей динамика заболеваемости населения имеет общую тенденцию к росту: в Омской области в начале 1980-х гг. линия тренда начинает расти почти экспоненциально и достигает пика в 2000 г., в Курганской области в конце 1970-х – начале 80-х гг. (рис. 1.3.7). В Омской области за период наблюдений можно выделить три периода: период низкой заболеваемости 1960-1988 гг. с единичными случаями, последующий период роста с пиком в 2000 г. (30 случаев на 100 тыс. нас.), и стремительное снижение заболеваемости за 2001–2003 гг.

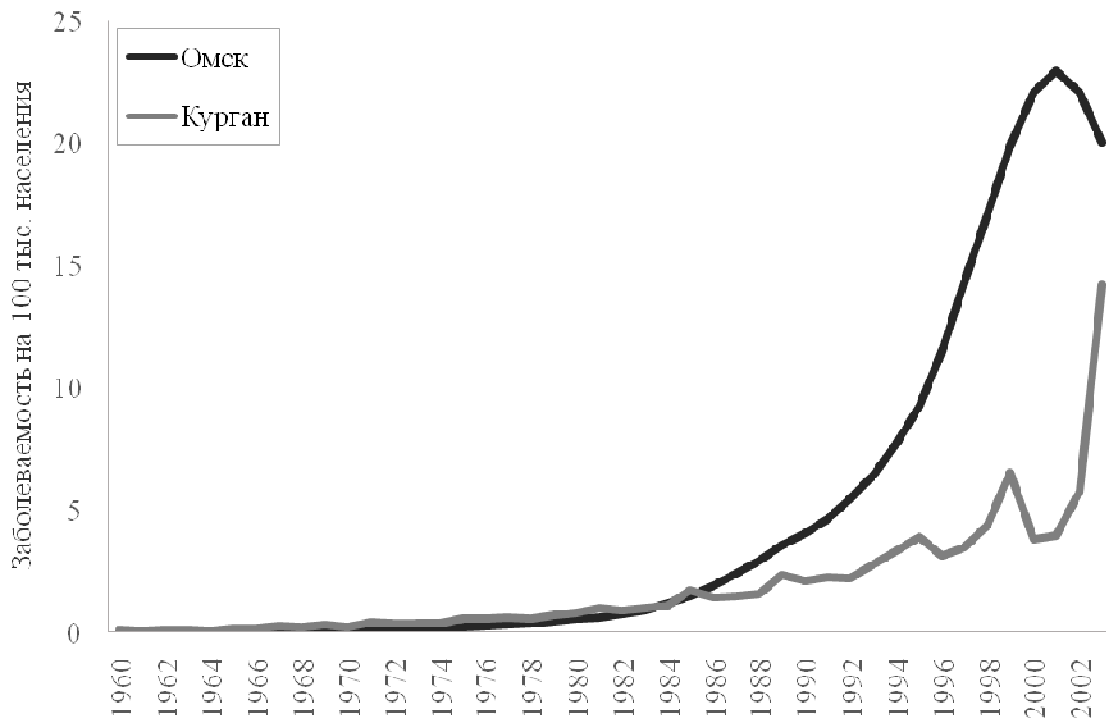


Рисунок 1.3.7. Сравнение линий тренда заболеваемости клещевым энцефалитом в северной лесостепи Омской и Курганской областей. Выделение тренда проводили методом сингулярного спектрального анализа (SSA).

При анализе временных рядов циклические колебания в динамике заболеваемости в Омской и Курганской областях не выявляются, что может быть связано с особенностями структуры эпизоотических циклов – фауна переносчиков КЭ в данной ландшафтной зоне представлена тремя видами с различной продолжительностью жизненного цикла. При этом вклад таежного клеща в совокупное инфицирование населения на территории северной лесостепи имеет локально-территориальный и сезонный (апрель-май) характер, тогда как клещи р. *Dermacentor* в силу особенностей жизненной схемы обеспечивают контакт населения с возбудителем в весенне-летний и осенний периоды. Особенности структуры эпизоотических циклов лесостепных очагов КЭ приводятся ниже, в разделе «Эпизоотическая характеристика...».

Южная тайга. За 49-летний период наблюдений (1958–2006 гг.) южно-таежные очаги КЭ Курганской области характеризовались медленным ростом заболеваемости населения с почти линейным положительным трендом, с зарегистрированным

в 1996 г. максимумом – 154,9 случаев на 100 тыс. населения, и некоторым замедлением в 2003 г. На данной территории четко прослеживается цикличность процесса с периодом в 11–12 лет.

В очагах южной тайги Омской области (1953–2003 гг.) кривая динамики заболеваемости имеет более сложную форму, линия тренда позволяет выделить два периода – плавное снижение заболеваемости с 1953 по 1975 гг., с последующим ростом заболеваемости в интервале 1976–2000 гг. с максимумом в 1999 г. (62,3 случая на 100 тыс. населения).

В очагах южной тайги Томской области (1975–2003 гг.) кривая динамики заболеваемости клещевым энцефалитом имеет выраженную куполообразную форму с максимумом в 1992 г. – 68,7 случаев на 100 тыс. населения. Линия тренда позволяет выделить три периода: 1975–1991 гг. – период роста заболеваемости; 1991–2001 гг. – период высокой заболеваемости – в среднем 51,6 случаев на 100 тыс.; 2001–2003 гг. – снижение заболеваемости до 18,0 случаев на 100 тыс. населения. На данной территории прослеживается цикличность с периодом в 4,5 лет (рис. 1.3.8).

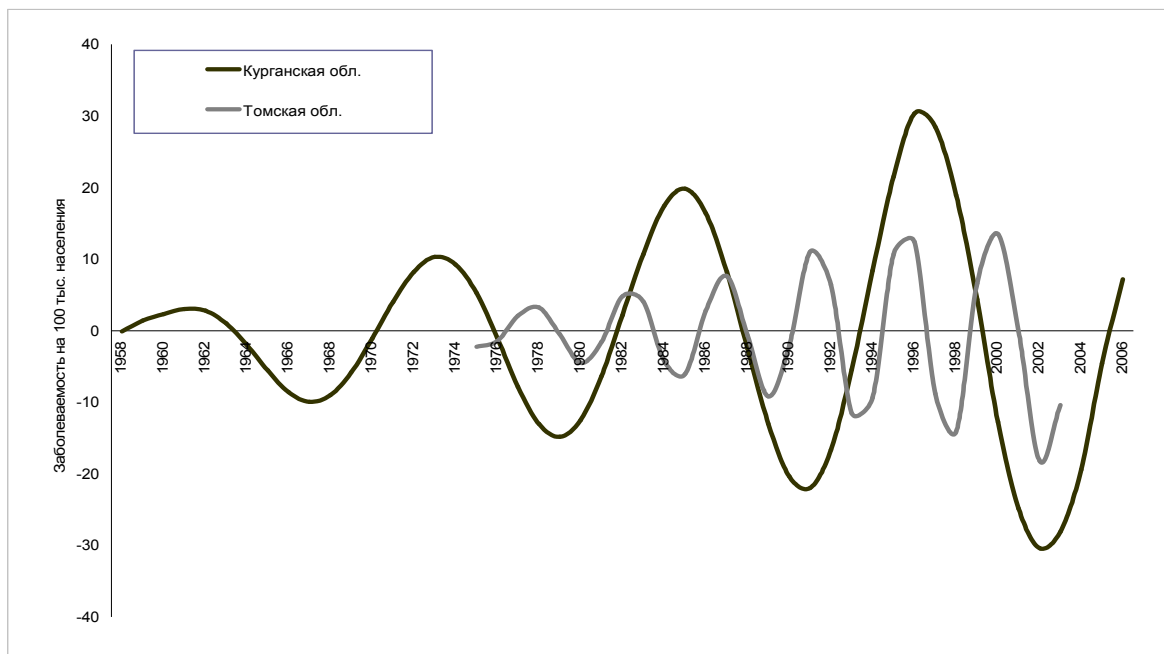


Рис. 1.3.8. Сравнение циклических компонент заболеваемости клещевым энцефалитом в подзоне южной тайги Курганской и Томской областей (экстракцию гармоник проводили методом сингулярного спектрального анализа).

Сравнение сглаженных временных рядов динамики заболеваемости в очагах южной тайги трех территорий Западной Сибири позволяет отметить общее увеличение заболеваемости клещевым энцефалитом во всех трёх рассматриваемых областях в период с 1981 г. (рис. 1.3.9). В Курганской области рост заболеваемости происходил плавно, почти линейно, с 1960 по 2001 гг., в период 2001–2006 тренд заболеваемости оставался положительным, но отмечается снижение темпов роста. В Омской и Томской областях линии тренда заболеваемости в период с 1981 г. имеют почти синхронную динамику: период роста сменяется пиковым периодом с 1991 по 2001 с последующей тенденцией к снижению заболеваемости.

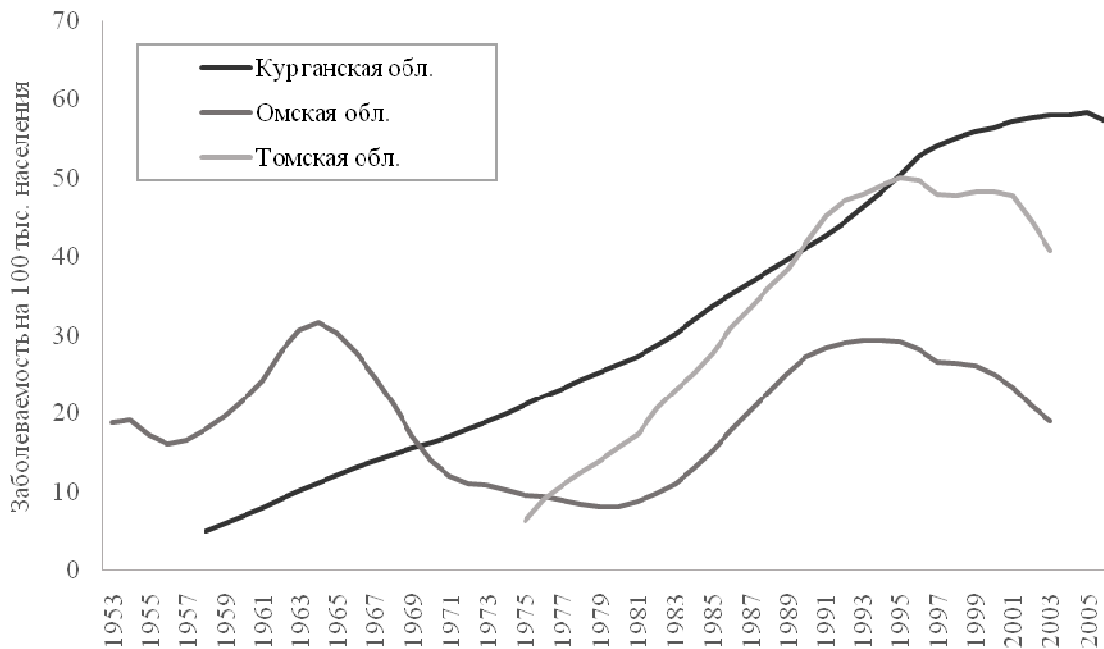


Рис. 1.3.9. Сравнение линий тренда заболеваемости клещевым энцефалитом в подзоне южной тайги Курганской, Омской и Томской областей (выделение тренда проводили методом сингулярного спектрального анализа).

В очагах КЭ в южной тайге Курганской области выявляется цикличность с периодом 11–12 лет, в Томской области период цикла почти вдвое короче и составляет примерно 4,5 года (см. рис. 1.3.8). В южной тайге Омской области выраженной цикличности заболевания населения КЭ не выявлено.

Средняя тайга. В подзоне средней тайги максимальное значение уровня заболеваемости зарегистрировано в 1996 г. и составило 37,8 на западе (Ханты-Мансийский и Нефтеюганский районы ХМАО) и 20,9 случаев на 100 тыс. населения на востоке исследуемой территории (Нижневартовский район ХМАО и Александровский район Томской области). Линия тренда держится практически на одном уровне, для западной части округа после 1997 г. характеризуется плавным снижением. Для территории характерна цикличность процесса с интервалом в три года (рис. 1.3.10).

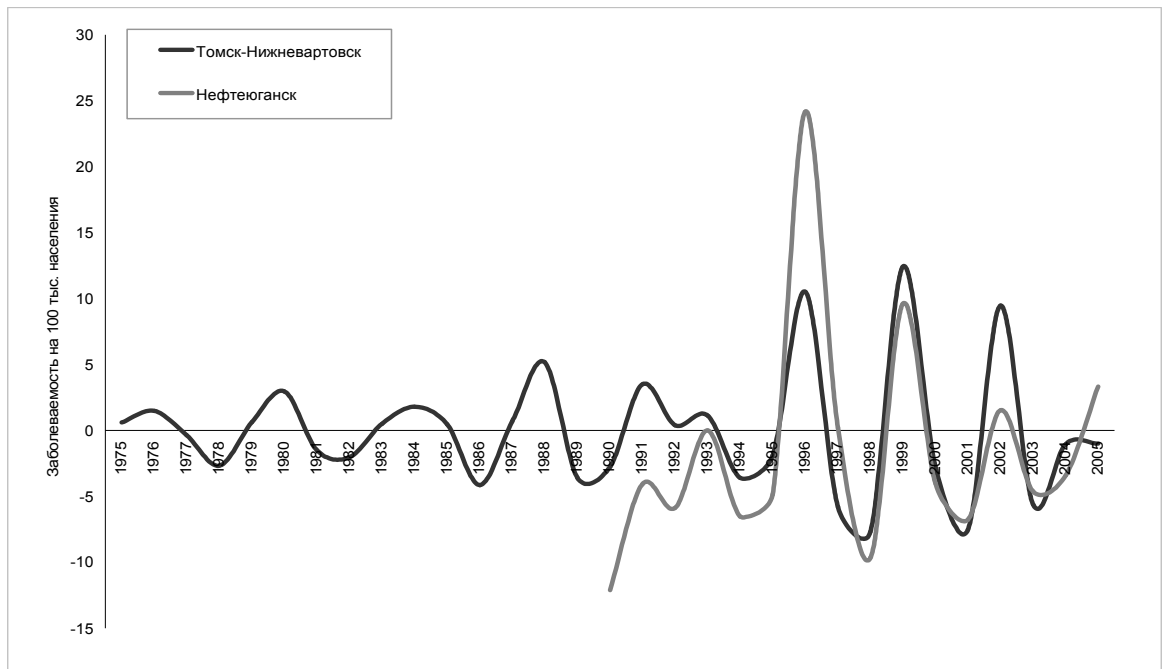


Рисунок 1.3.10. Сравнение циклических компонент заболеваемости клещевым энцефалитом в подзоне средней тайги (экстракцию гармоник проводили методом сингулярного спектрального анализа).

После выраженного всплеска заболеваемости (1996 г.) имело место затухание процесса с трехлетней периодичностью. Выделенная линия тренда почти параллельна оси X и после 1997 г. имеет отрицательную тенденцию, плавно снижаясь.

В подзоне средней тайги на востоке исследуемой территории (Нижневартовский район ХМАО и Александровский район Томской области) заболеваемость клещевым энцефалитом также существенно ниже, чем в подзоне южной тайги –

максимальное значение зарегистрировано в 1996 г. – 20,9 случаев на 100 тыс. населения. Выделенная линия тренда имеет небольшой положительный наклон, кроме того, временной ряд содержит циклическую компоненту с периодом в 3 года.

Таким образом, анализируя динамику заболеваемости КЭ в трех ландшафтных подзонах Западной Сибири, выявляются некоторые общие тенденции данного процесса. Так в подзоне южной тайги двух субъектов Сибирского ФО (Томская и Омская области) отмечен рост заболеваемости после 1975 г. Наиболее вероятно, что это было связано – прежде всего – с ослаблением эффекта противоклещевых обработок 60-х годов XX века (в пользу этой версии говорит и снижение заболеваемости в Омской области с 1953 года.). Дальнейшее развитие ситуации по-видимому имеет общие тенденции, о чем говорит общий вид линии тренда, резко отличающийся от Зауралья (Курганская область). Для территорий, достаточно однородных в ландшафтном отношении (подзона средней тайги ХМАО-Югра и севера Томской области, и подзона южной тайги на юге и юго-западе Томской области), отмечается достаточно строгая циклическая процессу, составляющая соответственно 3 и 4,5 года. Этот факт указывает на существенное значение биотических факторов, к каковым следует отнести эпидемически значимых переносчиков. Для практически всей данной территории (кроме г. Томска и его рекреационной зоны) единственным видом переносчиков является таежный клещ, и наблюдаемый циклический характер динамики заболеваемости наиболее вероятно определяется динамикой численности переносчиков. Строгая циклическая выявляется и для таежных территорий Зауралья (Курганская область), однако длительность циклов свидетельствует об ином характере действующих факторов, нежели в аналогичных ландшафтах равнинной части региона.

Что касается лесостепной зоны в равнинной части Западной Сибири, наличие общих тенденций в динамике заболеваемости позволяет предполагать действие факторов, имеющих общую природу. Так устойчивая тенденция к росту в конце 70-х – начале 80-х годах прошлого века и последующему снижению в начале 2000-х не может быть интерпретирована исключительно

действием биотических факторов. Безусловно здесь следует рассматривать комплекс социальных факторов, действие которых усилилось в 90-х годах на фоне общей экономической ситуации. Но не следует исключать и совокупное действие природно-климатических факторов – именно в 80-х годах началось активное обсуждение проблемы глобального изменения климата. Наиболее активно эту проблему обсуждают в Европе, где за последние 30 лет вчетверо увеличилось число случаев заболевания КЭ на эндемичных территориях, а также появились новые очаговые регионы, ранее не существовавшие (European Centre..., 2014). Это связывают как изменением общих для данных территорий климатических факторов, влияющих на популяцию клещей, так и возможностью распространения этих популяций на новые территории в Европе. Следует отметить, что качественные изменения в фауне переносчиков, а также их проникновение и закрепление группировок на новых, ранее не занимаемых ими (или отсутствовавшими на протяжении нескольких десятилетий), наблюдается и в Западной Сибири. Эти вопросы будут обсуждаться в последующих разделах данной главы.

Эпизоотологическая характеристика природных очагов КЭ в Западной Сибири

На юге равнинной части Западной Сибири эпизоотически активные очаги КЭ охватывают степные и лесостепные территории северного и, частично, центрального Казахстана (Павлодарскую, Карагандинскую, Северо-Казахстанскую, Акмолинскую и крайний северо-запад Восточно-Казахстанской областей) и приграничные с Республикой Казахстан территории Российской Федерации (Новосибирская, Омская, Курганская области и юго-западная часть Алтайского Края). На территории Омской области Российской Федерации степные территории фактически отсутствуют вследствие антропогенной трансформации (распашка целинных земель в 50–60-х гг. XX в.), на остальных приграничных с Казахстаном территориях – подвергаются значительному антропогенному воздействию. Указанные территории характеризуются абсолютным доминированием в фауне переносчиков

КЭ двух видов пастбищных иксодид – *Dermacentor reticulatus* и *D. marginatus* (на востоке указанной территории появляется *D. silvarum*). Степные территории характеризуются отсутствием в фауне иксодовых клещей таежного клеща, но следует иметь ввиду присутствие видов с гнездово-норовым типом паразитизма (в частности, *Ixodes crenulatus*), не имеющих эпидемического значения, но роль которых в эпизоотическом процессе КЭ не изучена. На лесостепных территориях таежный клещ регистрируется в составе фауны иксодид.

Аридные степи Центрального и Северного Казахстана.

Территория характеризуется либо полным отсутствием регистрации заболеваемости населения КЭ, либо эпизодически регистрируются единичные случаи. Так, на указанных территориях Казахстана за период 1997–2009 гг. (Атлас распространности..., 2010) зарегистрированы единичные случаи заболевания. До 1960 г. на территории Казахстана природные очаги КЭ были известны только в горно-лесной зоне (Дмитриенко, 1962) на юго-западе этой страны, являющиеся эпидемически активными и вносящими основной вклад в современный период (наряду с горно-лесными территориями Восточно-Казахстанской области) в структуру заболеваемости КЭ населения Республики Казахстан (Атлас распространности..., 2010). В зоне сухих степей Центрального Казахстана эпизоотически активные природные очаги КЭ (подтвержденные изоляцией вируса КЭ) были впервые выявлены только 1960–1963 гг. на территории Карагандинской области (Дмитриенко, Приходько, 1967). В сборах абсолютно доминировал *D. marginatus* (95–97 %), в небольшом количестве присутствовал *D. reticulatus* (3–5 %). Основными прокормителями являлись млекопитающие степного фаунистического комплекса. В составе фауны иксодид также присутствовали (на грызунах) *I. laguri* и *I. creanulatus* – виды с убежищным типом паразитизма. Вирус был изолирован из трех видов клещей: *D. marginatus* (44 штамма за период 1961–1963 гг.), *D. reticulatus* (1), *Ix. creanulatus* (1). Индивидуальная инфицированность *D. marginatus*, рассчитанная по результатам пуловых исследований, варьировала от 2 до 3,7 % (с максимумом в 1962 г.).

Спустя 30-летний период (1990–1995 гг.), продолженные на данной территории исследования подтвердили ведущее значение клещей *D. marginatus* в цикле циркуляции ВКЭ – доля в составе фауны иксодид составила 96–98 %, инфицированность – по результатам РНГА и пулового вирусологического исследования, – 2,6 % и 1,4 %, соответственно (Танкибаев, 1996). В 1999–2001 гг. было продолжено изучение очагов КЭ данного типа (Якименко, Танкибаев, 2001). Уровень численности *D. marginatus* и *D. reticulatus* и вирусофорность (по результатам исследования отдельных экземпляров иксодовых клещей) в среднем по территории осталась в тех же пределах, что и 10–40 лет назад. Однако исследования отдельных экземпляров клещей показывают, что в пределах локальных участков и в разные годы данный показатель может существенно варьировать, что косвенно отражает особенности очагов ВКЭ в аридной зоне. Степные территории Павлодарской области Республики Казахстан (2005 г.) также характеризуются наличием природных очагов КЭ подобного типа, с ведущей ролью в эпизоотическом цикле и в составе фауны иксодид клещей *D. marginatus*.

Степные территории Омской области. До начала распашки залежных земель в степной зоне Омской области случаи заболевания КЭ (Гагарина, 1955) были зарегистрированы однократно, в четырех населенных пунктах Русско-Полянского р-на в мае 1951 г. Все случаи были зарегистрированы в период активности фонового для данной территории вида иксодовых клещей *D. marginatus* и встречающегося на отдельных участках данной территории и значительно уступавший в численности первому – *D. reticulatus (pictus)*. Видовой состав прокормителей данных видов иксодид в указанный период (1950-е годы) был представлен типичными видами степной фауны позвоночных. В современный период распределение переносчиков из числа иксодид здесь крайне неравномерно, наибольшая встречаемость *D. marginatus* отмечается только в окрестностях населенных пунктов и местах выпаса скота. На степных участках, не используемых в хозяйственной деятельности человека, иксодиды регистрируются лишь в сезоны всплеска их численности на данной территории, как это имело место в 2000 г. – доля

клещей, содержащих специфический антиген (по результатам исследования отдельных экземпляров клещей *D. marginatus* в ИФА), составляла от 2 до 4,5 %. Следует отметить, что в период активности преимагинальных фаз развития клещей, последних на млекопитающих из состава населения грызунов и насекомоядных степных и водно-болотных местообитаний в данной ландшафтной зоне не обнаружено (1997–2001 г.). При этом наблюдалось относительно благополучное состояние популяций грызунов – представителей степной фауны, которые являются здесь основными прокормителями преимагинальных фаз развития *D. marginatus*. Это обстоятельство дает основание предполагать, что основной причиной деградации группировок степного клеща в Омской области в указанный период времени являлось резкое сокращением поголовья мелкого и крупного рогатого скота, являющегося (на фоне крайне низкой плотности населения диких копытных) основным прокормителем имаго этого вида.

Вирус КЭ в пределах степной зоны Омской области изолирован от грызунов водно-болотного комплекса (полевка-экономка) и гамазовых клещей из числа неисклчительных гематофагов из гнезд птиц (*Androlaelaps casalis*); из степной зоны Казахстана – из клещей *D. marginatus*. Природные очаги КЭ в степной зоне (как Северного Казахстана (штаммы от иксодовых клещей), так и юга Омской области (штаммы от мышевидных млекопитающих и членистоногих убежищного комплекса) ассоциированы (по результатам анализа фрагмента гена, кодирующего поверхностный белок E) с вирусом сибирского генотипа (субтипа).

Степные территории Алтайского края. В ландшафтном отношении данная территория характеризуется как «боровая степь» – чередующиеся ленточные леса (сосновые и березовые и (или) осиново-березовые) с длинными и узкими участками сухой степи, находящейся под влиянием интенсивной сельскохозяйственной деятельности человека. Эпидемически значимые переносчики представлены четырьмя видами (*D. reticulatus*, *D. marginatus*, *D. silvarum* и *H. concinna*), из которых *D. marginatus* населяет степные участки, а остальные три вида – ленточные леса. Основу населения клещей составляет луговой клещ (77 % в сборах при численности в разных группах лесных

местообитаний от 9,0 до 25,0 экз./км), *D. silvarum* и *H. concinna* малочисленны. Фауна прокормителей имаго иксодовых клещей в ленточных лесах находится в относительно благополучном состоянии и представлена крупными копытными (лось, косуля). Численность степного клеща составляет в настоящее время от 0,8 до 7,0 экз./км. Несмотря на наличие высокой плотности прокормителей имаго (сельскохозяйственные животные), мелкие млекопитающие из числа видов-прокормителей неполовозрелых фаз развития клещей, сосредоточены исключительно в экотонах на границе степи (узкочерепная полевка), и в лесных местообитаниях, что, по-видимому, и обеспечивает постоянно низкую численность степного клеща. Инфицированность вирусом КЭ, определенная методами экспресс-анализа и подтвержденная изоляцией штаммов вируса в биопробе на новорожденных белых мышах, у луговых клещей составила 5,6 %, у степных – около 19,0 %. Генотипическая и геновариантная принадлежность возбудителей отражена в разделе «Географическое распространение и генетическое разнообразие...».

Лесостепные очаги КЭ равнинной части Западной Сибири. Выше отмечалось, что первые зарегистрированные случаи заболевания клещевым энцефалитом (КЭ) среди местного населения лесостепных районов приходятся на 1959–1960 гг. Численность *Ixodes persulcatus* в составе фауны иксодид северной лесостепи в это время не превышала 2 % (Нецкий и др., 1963), в основном – на территориях, пограничных с подтаежной зоной. В связи с этим есть основание предполагать, что инфицирование людей происходило при контактах с клещами *D. reticulatus* и *D. marginatus*, соотношение которых в составе фауны иксодид северной лесостепи составляло, соответственно, 54 % и 46 % при уровне инфицированности около 1 %, что было в 2,5 раза ниже инфицированности таежных клещей того же периода (Белан и др., 1964; Федорова, 1969). Численность *D. reticulatus* в этот период достигала очень высоких показателей (от 79–130 экз./га в сельскохозяйственных угодьях до 620–720 – в местообитаниях закрытого типа (колках, опушках, зарослях кустарников) с максимумом в экотонах). В структуре населения мелких млекопитающих доминирующее положение

на данный период времени занимала узкочерепная полевка (от 4 до 7,2 экз./га в местообитаниях разного типа), игравшая, в связи с высоким уровнем численности, ведущее значение в прокормлении преимагинальных фаз развития клещей этих видов.

В последующий 50-летний период произошли существенные изменения границ распространения, численности и уровня инфицированности иксодид вирусом КЭ, происходившие на фоне изменения структуры населения мышевидных млекопитающих. Среди грызунов вместо узкочерепной полевки доминирующее положение стала занимать красная полевка (35–56 % в фауне мелких млекопитающих), численность которой в августе 1959–1962 гг. составляла 2,7–9,0 экз. на 100 ловушко-суток (Федорова, 1969). Из других млекопитающих в заметном количестве зарегистрированы полевая мышь и обыкновенная бурозубка. В качестве причин подобных фаунистических изменений указывалось антрополическое изменение ландшафтов лесостепи за счет увеличения сельскохозяйственных земель (Бусыгин и др., 1975), приведшее к сокращению площадей естественных лугостепных местообитаний. Это в конечном итоге привело к сокращению численности узкочерепной полевки в связи с сокращением пригодных местообитаний, и, как следствие, к сокращению абсолютной численности лугового и степного клещей. Последний вид в северной лесостепи Западной Сибири сохранился и поддерживает относительно высокую численность только в местах обитания узкочерепной полевки.

К началу XXI в. южная граница распространения таежного клеща и северная – лугового и степного, опустились к югу (рис. 1.3.11, 1.3.12). При этом инфицированность таежного (1,8–15,3 %) и лугового клещей (0,0–17,2 %) в северной лесостепи достигли сопоставимых уровней (Матущенко и др., 2004). В лесных типах биотопов и прилегающих экотонах изменения численности таежного и лугового клещей, связанные с популяционными циклами, как правило, проходят в противофазе, то есть снижение или депрессия численности у одного вида совпадает с ростом или пиком численности у другого. Исключение составляют экотоны, прилегающие к лесостепным болотам – гидрологический режим данных местообитаний син-

хронизирует циклические процессы у этих видов иксодид. Численность степного клеща в северной лесостепи существенно сократилась, характер его распространения стал мозаичным. Популяционные циклы степного и лугового клещей в местах совместного обитания несинхронны, осенний пик сезонной активности у степного клеща может полностью отсутствовать.

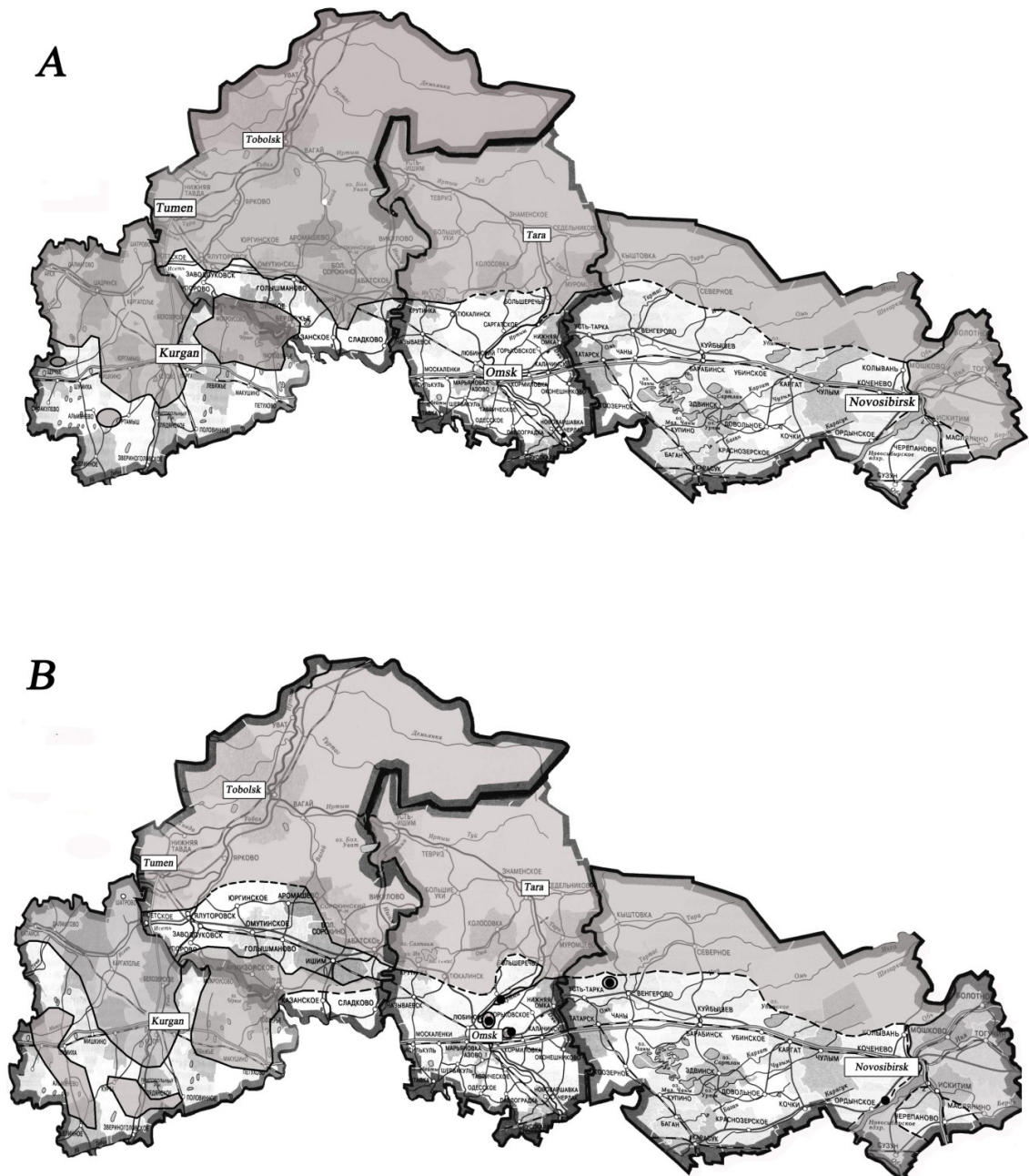


Рис. 1.3.11. Южная граница распространения *I. persulcatus* в Зауралье, Ишимской и Барабинской лесостепи Западной Сибири:
А – до 1980 года; В – после 1990 года.

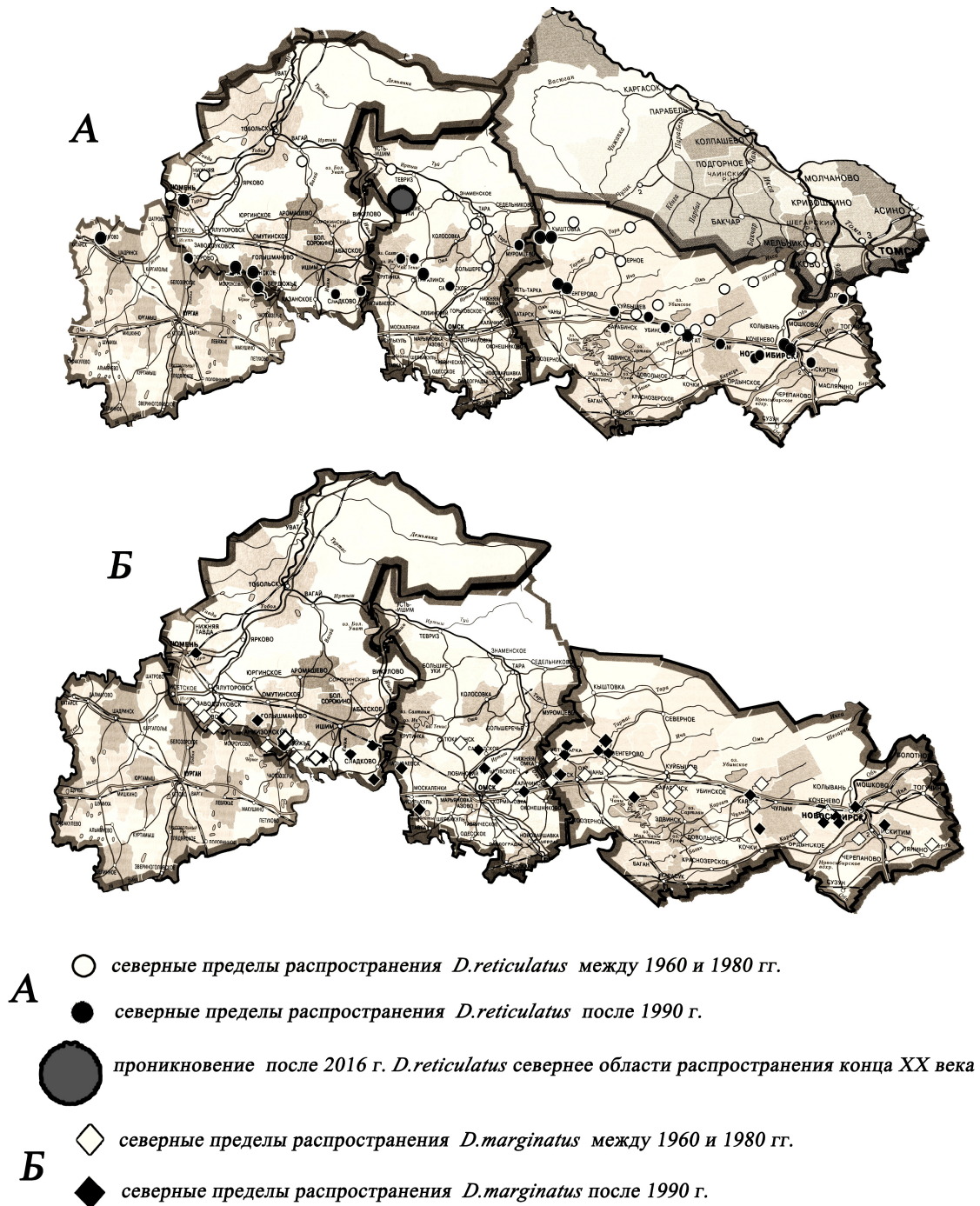


Рис. 1.3.12. Распространения иксодовых клещей р. *Dermacentor* в Зауралье, Ишимской и Барабинской лесостепи Западной Сибири:
А – *D. reticulatus* ; В – *D. marginatus*.

Тем не менее, на лесостепной территории Тюменской, Омской и Новосибирской областей, свободной от таежного клеща, регистрировалась и продолжает регистрироваться заболеваемость населения КЭ, с выраженными в последнее 20-летие подъемами. Так, по данным областных управлений санэпиднадзора,

в различных лесостепных районах, свободных от *Ix. persulcatus* или где его численность находится на крайне низком уровне, подъемы заболеваемости населения КЭ регистрировались: в Тюменской области (Казанский, Бердюжский и Сладковский р-ны) – в 1993, 1995–1996, 1999–2001 гг.; в Омской области (Нижнее-Омский р-н) – в 1988–1989, 1992–1993, 1995–1997, 2000–2001 гг.; в Новосибирской области (Барабинский, Доволенский р-ны) – в 1999 и 2001 гг. Это дает основание предполагать участие в эпидемическом процессе переносчиков из числа клещей рода *Dermacentor*. Однако, в пределах субъектов федерации есть административные территории, расположенные в северной лесостепи и характеризующиеся высокими показателями численности и инфицированности лугового и степного клещей вирусом КЭ, где заболеваемость населения КЭ не регистрируется или имеет характер единичных, спорадических случаев. Таковыми являются Называевский р-н Омской области, Татарский и Чановский р-ны Новосибирской области, пять приграничных с Казахстаном районов Курганской области. До конца XX в. заболеваемость не регистрировалась в восьми районах Курганской области (Килевой и др., 1998), в Венгеровском районе Новосибирской области. В связи с появившимися в 1999 г. (3 случая) больными КЭ, и резким последующим ростом заболеваемости в 2002 г. (11 случаев или 45,74 на 100 тыс. нас.) данная территория была включена в состав эндемичных по КЭ районов Новосибирской области, а в настоящее время (на 2018 г.) включены в этот перечень и Усть-Таркский и Чановский районы. В Сладковском районе Тюменской области (граничащим с Называевским р-ном Омской обл.) за 14-летний период (1993–2006 гг.) зарегистрировано только шесть случаев заболевания КЭ (по одному в 1995 и 1999 гг., четыре – в 2001 г.). При этом частота обращения людей с жалобой на укус клещей в районе составляет до нескольких сотен в год. Ранее (Филатов и др., 1974) здесь также регистрировали спорадическую заболеваемость людей (в Бердюжском р-не в 1969 г. – 2, в 1971 и 1972 гг. – по 1; в Сладковском в 1970 г. – 1). Редкие случаи заражения людей регистрировались в тот период времени и в очагах на территории Абатского и Ишимского р-нов (Столбов и др., 1970), территориально расположенных в двух ландшафтных подзонах – подтаежной и северной лесостепной.

Как отмечалось выше, с середины 80 гг. XX века в лесостепных районах равнинной части Западной Сибири начался стойкий рост заболеваемости населения КЭ. С начала 90 гг. прошлого века в трех лесостепных районах Тюменской области (Армизонском, Бердюжском и Казанском) также отмечается рост заболеваемости, достигавший пиковых значений в 1999 г. (125,1 случай на 100 тыс. населения в Армизонском и 86,99 – в Казанском) и 2001–2002 гг. (92,86 и 85,71, соответственно, – в Бердюжском р-не). На территории Абатского и Ишимского районов заболеваемость КЭ приобрела регулярный характер, редко опускающийся ниже 30 случаев на 100 тыс. населения. Это вполне соответствует регистрируемым уровням заболеваемости на территории граничащего с ними Крутинского района Омской области.

В связи с тем, что в структуре заболеваемости населения КЭ на территории лесостепных районов периодически (не ежегодно) регистрируются выраженные осенние (в августе и сентябре) пики заболеваемости (рис. 1.3.13), никак не связанные с активностью таежного клеща, возникает вопрос о существенной эпидемической роли переносчиков из числа клещей р. *Dermacentor*, численность и инфицированность которых ВКЭ достигает высоких показателей. Так, в лесостепных районах юга Курганской области (в том числе – и с отсутствием регистрации заболеваемости населения КЭ) таежный клещ регистрируется единично (от 0,2 до 0,8 экз./км) в пойменных местообитаниях долины р. Тобол и притоков. Численность клещей р. *Dermacentor* в период весенней активности значительно варьирует в местообитаниях различного типа и на разных приграничных с Республикой Казахстан административных территориях – от 1,7 до 50,4 экз./км у *D. reticulatus*, и от 1,6 до 78,8 экз./км у *D. marginatus*, соответственно. Соотношение доминирования этих двух видов также может значительно меняться в разные сезоны (весна-осень), что отражает разную выраженность осеннего пика активности у этих видов на разных административных территориях. Доля инфицированных клещей высоковирулентным вирусом КЭ (по результатам экспресс-анализа, подтвержденным

изоляция вируса в биопробе) у *D. marginatus* составляла около 9,5 % у самок и 3,4 % у самцов (суммарный 11,2 %); у *D. reticulatus* – 6,6 % и 3,2 % (суммарный 4,3 %), соответственно.

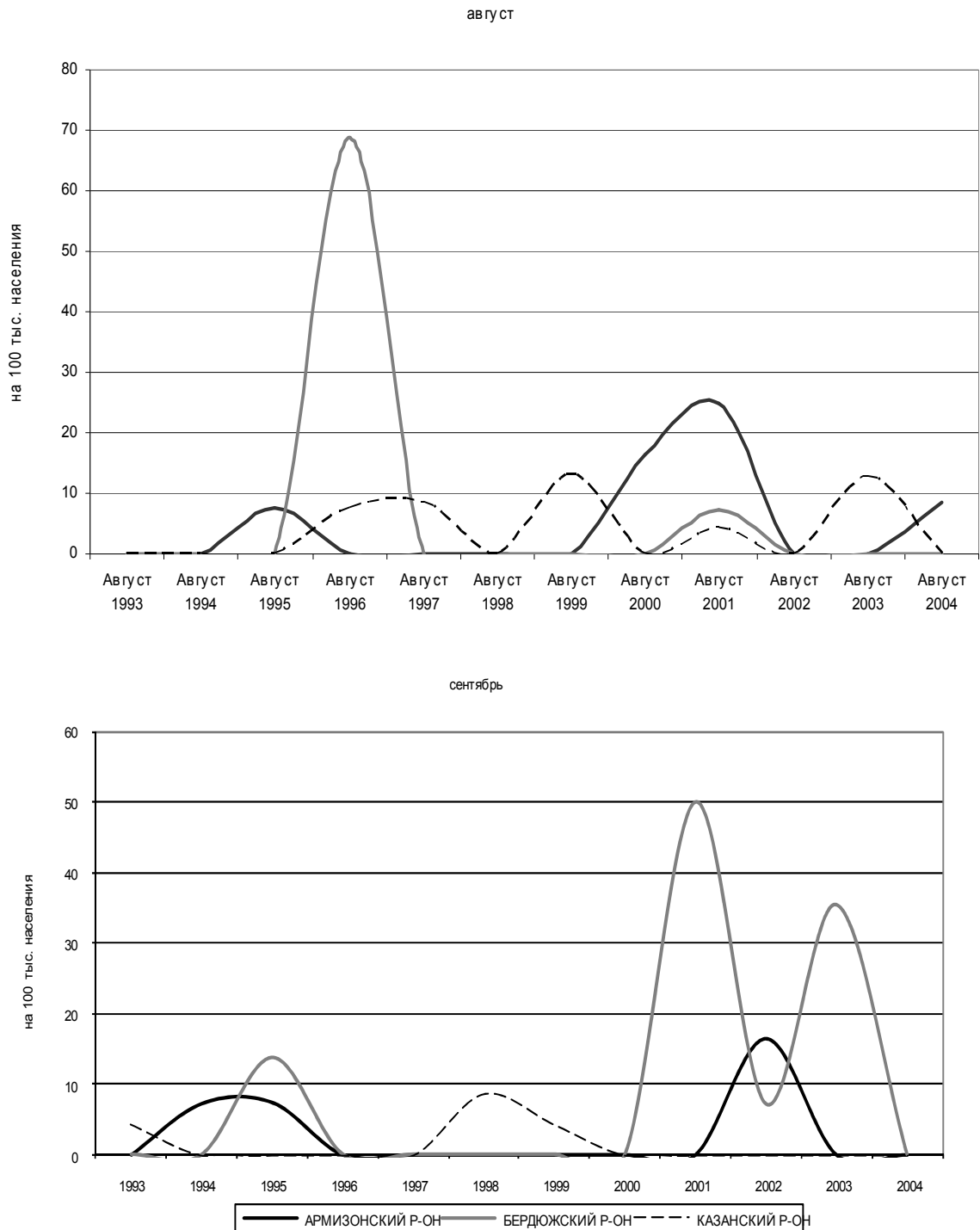


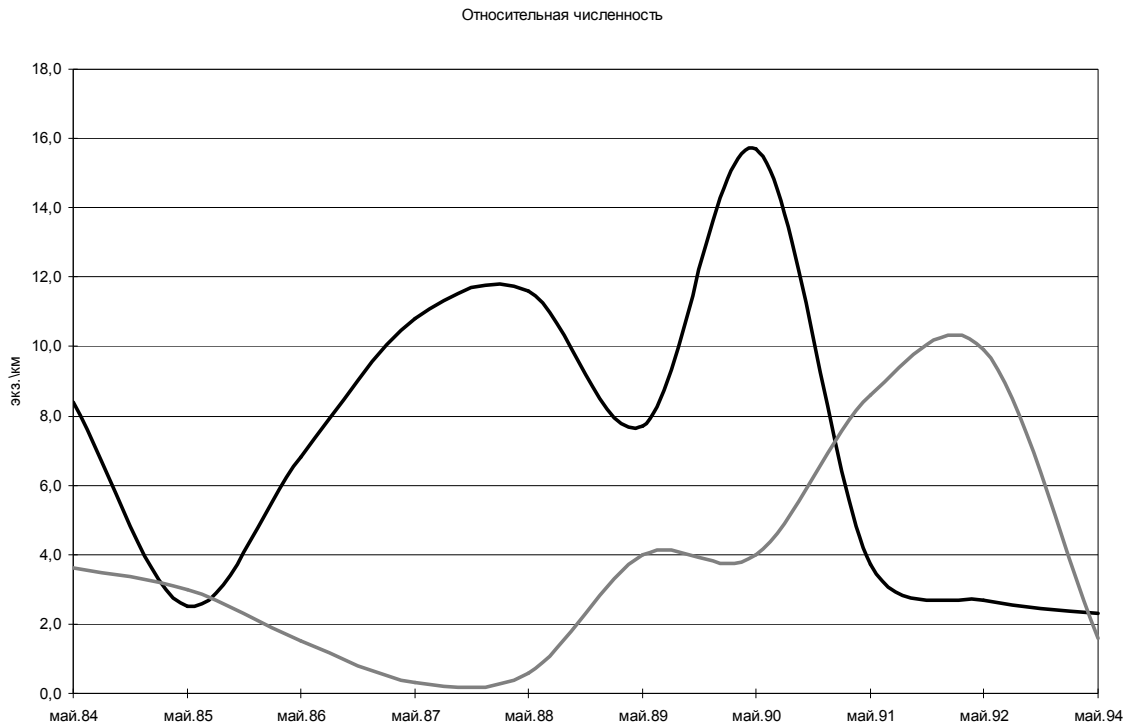
Рисунок 1.3.13. Заболеваемость КЭ населения трех лесостепных районов Тюменской области в осенний период (по данным официальной регистрации).

В лесостепных районах юга Тюменской области на восходящей фазе популяционного цикла, сопровождающейся ростом численности, весенняя численность лугового клеща по разным группам пригодных местообитаний варьировала от 22 до 63,3 кл./км при уровне инфицированности ВКЭ около 7 %. В этот же период времени у степного клеща численность составляла от 4,5 до 25 кл./км, у таежного клеща – около 4 кл./км (соответственно – фазы спада и депрессии). В осенний период численность лугового клеща составляла от 22,1 до 42,5 кл./км при уровне инфицированности на разных административных территориях 6–7 %. На территории Называевского района Омской области (заболеваемости КЭ не регистрируется), граничащего с данной территорией Тюменской области, состояние численности лугового (5,1–28,7 кл./км на фазе снижения численности) и степного клещей (3,0–4,3 кл./км) в целом сходны, таежный клещ встречается единично (около 0,3 кл./км). Уровень инфицированности лугового клеща также не превышал 7 %, степного – около 4 %.

В северной подзоне восточной части Ишимской лесостепи (территория Омской области) доля таежного клеща в составе фауны переносчиков возрастает с юга на север, где он становится содоминантом лугового клеща. В условиях совместного обитания их популяционные циклы находятся в противофазе (рисунок 1.3.14), уровень инфицированности (средний показатель за 10-летний период непрерывных наблюдений – 8,8 % у таежного, 8,2 % у лугового клещей, $r=0,75$) достигают сопоставимых показателей (Матущенко и др., 2002).

Степной клещ локально распространен в южной части подзоны, где в пригодных местообитаниях может достигать высокой численности, и в условиях совместного с луговым клещом обитания его инфицированность ВКЭ в годы высокой численности может достигать 10–11 % (у лугового в тот же период времени – не более 4 %). Совокупная инфицированность ВКЭ прокормителей из числа мелких млекопитающих в период сезонной активности преимагинальных фаз развития таежного и лугового клещей достигала 17,8 %.

А



Б

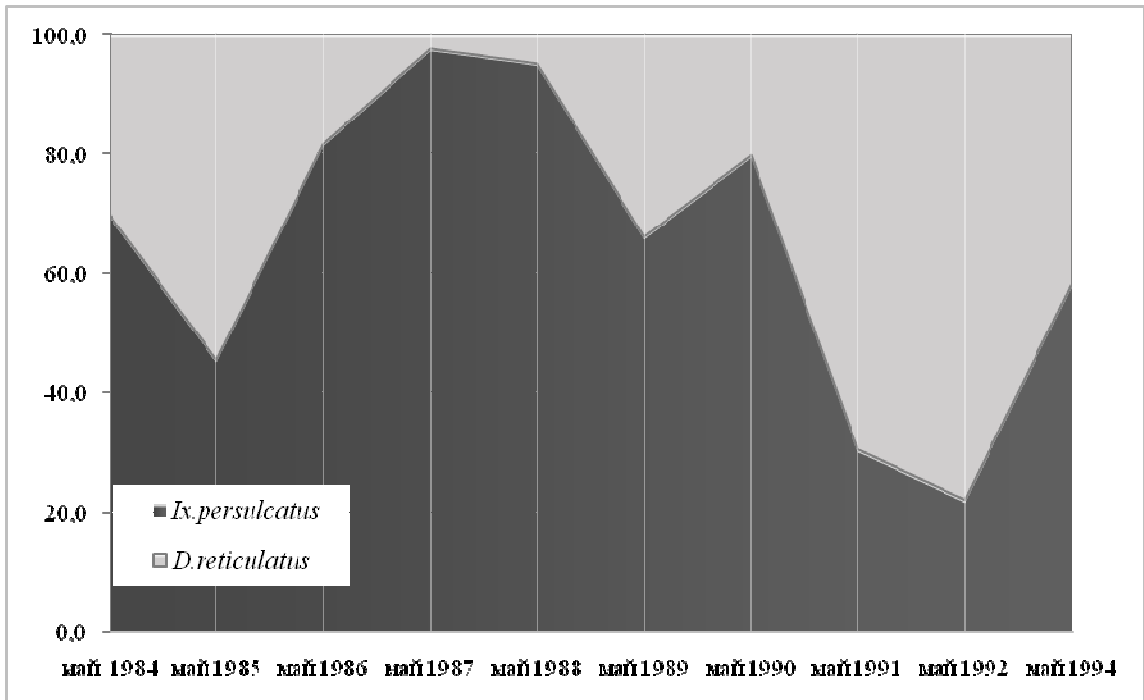


Рисунок 1.3.14. Показатели относительной численности (А) и соотношения видов (% , Б) пастбищных иксодид в северной лесостепи Омской области (за 10-летний период наблюдений).

В северной подзоне Барабинской лесостепи (районы Омской и Новосибирской областей в Обь-Иртышском междуречье) таежный клещ в современный период в составе фауны переносчиков имеет существенное значение только на крайнем западе (два района Омской и два – Новосибирской областей), где его численность в пригодных местообитаниях на разных этапах популяционного цикла варьирует от 0,8 до 10,0 кл./км. Численность лугового и степного клещей на разных этапах популяционного цикла также варьирует в очень широких пределах (от 2,6 до 72,0 и 0,8–89,2 кл./км, соответственно).

Таким образом, встает вопрос об эффективности разных видов переносчиков в эпидемическом цикле КЭ. На современном этапе изучения природных очагов КЭ эпидемическую активность данной инфекции связывают именно с таежным клещом даже в условиях поливидового состава переносчиков. Основанием для такого подхода вполне может служить характер динамики заболеваемости населения КЭ в лесостепных районах (см. рис. 1.3.7) – период стойкого роста заболеваемости на данных территориях совпадает с тенденцией изменения южных границ ареала таежного клеща в регионе. В целом, полученные данные по характеру распространения, уровням численности и инфицированности таежного, лугового и степного клещей демонстрируют крайне низкое эпидемическое значение, как переносчика КЭ, последнего вида. Вероятно, что эффективность таежного и лугового клещей в трансмиссии ВКЭ вполне сопоставимы, а причины различий их эпидемического значения могут быть связаны с особенностями их жизненного цикла (прежде всего, его продолжительность, определяющая скорость смены периодов популяционного цикла), и (или) сроками сезонной активности и пространственного распределения, что определяет степень влияния на эпидемический процесс социальных факторов.

Высказываются предположения о существовании отрицательной связи возрастного состава переносчиков с их инфицированностью ВКЭ (Якина, 2002 а). Эксперименты по оценке календарного возраста таежных клещей в северной лесостепи Тюменской области (Якина, 1998, 2002 б) показали, что сезонные группировки имаго этого вида состоят преимущественно

(64,4 % в 1983 г., 83 % в 1984 г.) из трехлетних особей. Доля четырехлетних составляла, соответственно, 35 % и 16,7 %, пятилетних – менее 1 %. Автор связывает это со сжатыми сроками прокормления преимагинальных стадий развития клещей этого вида в лесостепи – большей части когорт личинок и нимф удавалось успешно напитаться и приступить к метаморфозу без морфогенетической диапаузы. Для сравнения, в зоне подтайги значительная часть клещей завершала жизненный цикл за 4–5 лет с диапаузой на стадии личинки и/или нимфы (Якина, 1998). Этот тезис подтверждается при анализе временных рядов данных по инвазированности преимаго таежного клеща мелких млекопитающих. Кросс-корреляционный анализ изменений относительной численности личинок и нимф таежного клеща (28-летний период наблюдений, северная лесостепь Омской области) показал (Макенов и др., 2014), что максимальное значение коэффициента корреляции соответствует нулевому лагу ($r = 0,76$). Такая синхронная динамика обилия личинок и нимф указывает на то, что большая часть когорт успевает завершить жизненный цикл без морфогенетической диапаузы, что хорошо согласуется с результатами экспериментов Н.Х. Якиной (1998).

Однако, важно отметить, что в корреляционном анализе использовались данные по индексу обилия неполовозрелых клещей на мелких млекопитающих в июле-августе. В этот период времени (t) в популяциях таежного клеща, наряду с особями текущего сезона линьки, активны личинки и нимфы, прошедшие метаморфоз в конце лета предыдущего года ($t-1$). Эти особи весной выходят из поведенческой диапаузы и приступают к активному подстереганию прокормителей. Соответственно, высокое обилие неполовозрелых клещей на мелких млекопитающих в июле-августе указывает на то, что этим клещам не удалось найти прокормителя весной-первой половине лета. Причиной такого позднего питания могут быть неблагоприятные климатические факторы (низкие или чрезмерно высокие температуры, низкая влажность воздуха) или низкая плотность прокормителей (последнее для весеннего сезона

в условиях Западной Сибири является нормой). Известно, что при позднем завершении питания (во второй половине лета), личинки и нимфы с большей вероятностью уходят в морфогенетическую диапаузу и метаморфозируют после зимовки (Коротков, Кисленко, 1995; Якина, 1998). Соответственно, это может объяснять лаг в один год при сравнении обилия личинок и нимф.

Анализ показал, что тренды изменения численности личинок и нимф практически идентичны и различаются только амплитудой (значением индекса обилия) – при нулевом лаге $r = 0,995$. Наличие сильной положительной кросс-корреляции между трендами обилия личинок и нимф указывает на наличие общих факторов, влияющих сходным образом на личинок и нимф.

Многолетняя динамика интенсивности пораженности мелких млекопитающих личинками и нимфами таежного клеща характеризуется выраженным периодом низкой численности вида (1976–1987 гг.), после 1985 г. – периодом стойкого роста численности с пиками – у личинок в 1993 г., у нимф – в 1995–1996 гг.; затем – периодом плавного (у личинок) и резкого (у нимф) снижения до 2002 г. В динамике относительной численности имаго таежного клеща в интервале времени с 1972 по 1994 гг. просматривается почти линейный положительный тренд с увеличением численности почти в 2 раза, что вполне совпадает с изменениями численности преимагинальных фаз в тот же временной период.

Выявленная цикличность относительной численности («сезонная» компонента) имаго составляет 6–7 лет. Это соотносится с периодичностью колебаний относительной численности преимагинальных фаз развития таежного клеща в условиях северной лесостепи, которые составляют около 7 лет у личинок и 5–6 лет у нимф. Кроме этих периодов у личинок выявляется цикличность с периодом около 14 лет, вероятно не связанная с популяционными циклами.

Таким образом, приведенные результаты кросс-корреляционного анализа изменений численности таежного клеща в северной лесостепи демонстрируют совпадение периодов

стойкого роста численности вида с периодом резкого подъема заболеваемости населения КЭ (см. рис. 1.3.2). Уровень инфицированности таежных клещей в северной лесостепи Омской области составлял в 1982 – $6,4 \pm 0,6$, 1983 – $6,6 \pm 0,7$, 1984 – $4,8 \pm 0,7$, 1985 – $6,9 \pm 1,2$ %%, что в целом соответствует таковому в лесостепи Тюменской области (Катин, Якина, 1989). Наличие заболеваемости в периоды низкого (субнулевого) уровня сезонной активности таежного клеща, как и на территориях, где данный вид встречается единично, указывает на участие в эпидемическом процессе других видов переносчиков. На равнинной части Западной Сибири таковыми являются клещи р. *Dermacentor*, прежде всего луговой клещ. Роль степного клеща, исходя из достаточно высоких уровней численности и инфицированности вида высоковирулентным для белых мышей ВКЭ, и отсутствия заболеваемости на значительной части территорий лесостепи, где фауна переносчиков представлена клещами р. *Dermacentor*, по-видимому, минимальна.

В настоящее время наличие достоверной связи уровня инфицированности лугового и степного клещей с их физиологическим возрастом не выявлено. Тем не менее, сложность оценки роли лугового клеща в эпидемическом цикле ВКЭ может быть связана с более сложной возрастной структурой группировок вида в очагах. В отличие от таежного клеща, в структуре группировок которого доля физиологически «старых» особей на любой фазе популяционного цикла не превышает единиц процентов, в структуре группировок лугового и степного клещей на нисходящей фазе популяционного цикла доля «старых» особей может превышать 70 %. При этом следует отметить, что половозрастной состав группировок может резко различаться. Так, сезонный состав группировки самок может быть представлен «старыми» и «зрелыми» особями, тогда как самцов – «молодыми». Такая особенность структуры сезонных группировок скорее всего определяется коротким (годовым) циклом развития этих видов, обеспечивающим более динамичную смену популяционных циклов, чем у таежного клеща. Сезонный состав группировок клещей р. *Dermacentor* также включает перезимовавших взрослых клещей, способных

перезимовывать не менее двух раз (по Репкиной, 1980), что делает возрастной состав еще более неоднородным. По нашим предположениям, несмотря на отсутствие выявленной связи общей инфицированности клещей с их физиологическим возрастом, вероятно, существует зависимость доли особей с содержанием вируса в слюнных железах (т. н. «генерализованная форма» вируса) от их физиологического возраста. По крайней мере, в эксперименте на луговом клеще (Катин, Пустовалов, 1991) было показано снижение уровня общей инфицированности имаго (получивших вирус в результате трансфазовой передачи от зараженных нимф) при увеличении их календарного возраста (что сопровождается и изменением физиологического возраста клещей): в возрасте от 2,7 до 4,6 мес. возбудитель, высоковирулентный для белых мышей, выявлен в 45,5 (\pm 11,1) % случаев (в 9 из 20 исследованных проб); в возрасте от 8,2 до 9,2 месяцев – в 5,5 (\pm 5,3) % случаев (в одной из 18 исследованных проб).

Природные очаги КЭ лесной зоны равнинной части Западной Сибири. Сравнение динамики заболеваемости КЭ населения административных территорий, расположенных в лесной зоне Западной Сибири, за 15-летний период иллюстрирует достаточно выраженные различия уровней заболеваемости даже на граничащих территориях, расположенных в пределах различных ландшафтно-географических формаций (рис. 1.3.15–1.3.17). Кривые динамики заболеваемости КЭ, приведенные на данных рисунках (отображены средние показатели заболеваемости КЭ, рассчитанные на основании данных официальной регистрации на административных территориях, полностью располагающихся в границах указанных провинций), характеризуются своеобразием для граничащих друг с другом территорий, расположенных в разных провинциях (напр., Ишимская и Тобол-Иртышская, Васюганье и Тобол-Иртышская). Кроме того, как показано выше, в пределах южной тайги на разных административных территориях тенденции в динамике уровней заболеваемости КЭ имеют независимый характер, однако отмечается общая тенденция роста заболеваемости с начала 80-х гг. XX века.



Рис. 1.3.15. Динамика заболеваемости КЭ населения административных территорий подтаежной зоны Ишимской провинции (усредненные данные на основании данных официальной регистрации заболеваемости: Тюменская обл. – четыре, Омская – два района).



Рис. 1.3.16. Динамика заболеваемости КЭ населения административных территорий южной тайги Ишимской провинции (усредненные данные на основании данных официальной регистрации заболеваемости: Тюменская обл. – три, Омская – четыре района).

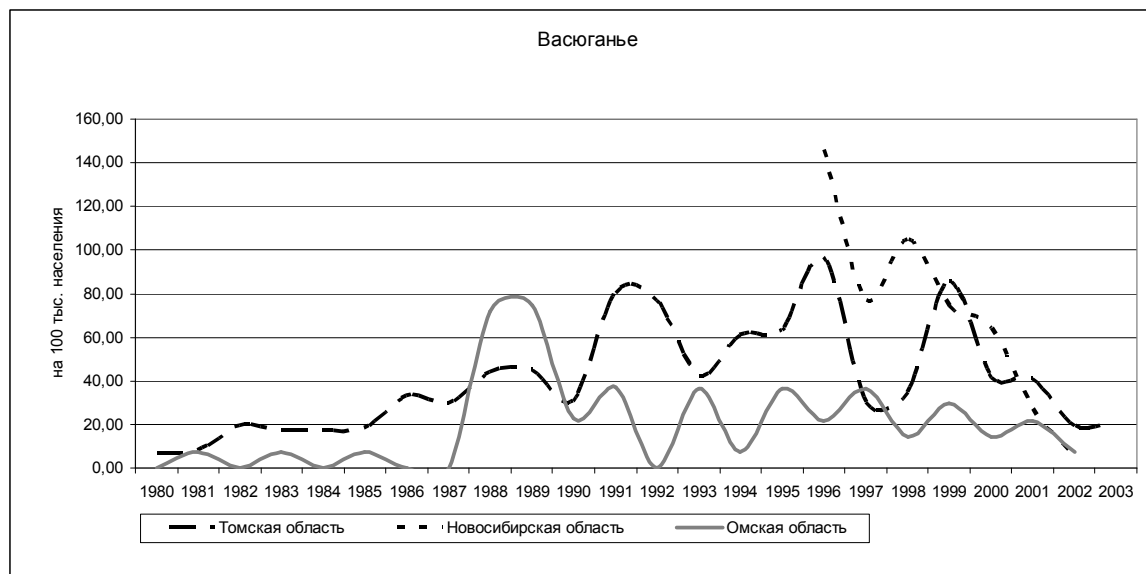


Рис. 1.3.17. Динамика заболеваемости КЭ населения административных территорий южной тайги Васюганья (усредненные данные на основании данных официальной регистрации заболеваемости:

Томская обл. – четыре, Новосибирская – два, Омская – один район).

Фауна эпидемически значимых переносчиков лесных ландшафтов достаточно единообразна, представлена единственным видом пастбищных иксодовых клещей – таежным клещом. В составе фауны иксодид присутствует имеющий существенное эпизоотическое значение в циркуляции ВКЭ иксодовый клещ со смешанным типом паразитизма *I. trianguliceps*, и вид с убежищным типом паразитизма и невыясненной ролью в эпизоотическом процессе ВКЭ – *I. apronophorus*. Луговой клещ единично встречается в подтаежной зоне в пойменных местообитаниях рек.

Для разных ландшафтно-географических провинций лесной зоны региона характерно отсутствие синхронности популяционных циклов таежного клеща – единственного эпидемически значимого вида переносчиков на этих территориях. По этой причине в общих границах территории каждый год регистрируется значительный разброс показателей численности таежного клеща. Кроме того, на соседних административных территориях, но расположенных в разных ландшафтных провинциях, популяционные циклы этого вида переносчиков могут иметь различную направленность, что может отражаться на уровне численности вида и его инфицированности ВКЭ.

Однако и при регистрации сходных показателей численности, тенденции её изменения в таких случаях могут быть противоположно направленными, характеризующиеся различным половозрастным составом группировок таежных клещей. Так, в случае фазы популяционного роста в группировках клещей будут доминировать молодые (по физиологическому возрасту) особи, вплоть до 100 % в выборке. На фазе спада численности доля таких особей в выборке сокращается до 20–30 %, но более 50 % составляют зрелые особи. Следует отметить, что доля «старых» особей в группировках таежных клещей крайне низка и, как правило, не превышает 3 %. Как отмечалось выше, существует предположение об обратной связи возраста клещей и их инфицированности ВКЭ (Якина, 1992). Так, в подтайге доля трехлетних имаго (то есть развивавшихся без диапаузы) составляла от 37,4 (1983 г.) до 3,6 (1984 г.) %%, четырехлетних (с личиночной диапаузой) – 21,5 и 4,5 %%, и четырехлетних (с нимфальной диапаузой) – 26,2 и 41 %%, пятилетних (с двумя диапаузами) – 15 и 51 %% (Катин, Якина, 1989, Якина, 1998). Инфицированность таежных клещей в подтайге Тюменской области по данным этих авторов за четырехлетний период наблюдений (1982–1985 гг.) варьировала от $1,3 \pm 0,3$ до $3,2 \pm 0,4$ %% на фоне высокой численности вида (не ниже $71,5 \pm 10,9$ экз./км).

Наши исследования состояния группировок переносчиков в природных очагах КЭ в подтаежной зоне Западной Сибири демонстрируют наличие высокой вариабельности численности у таежного клеща на разных территориях и в пределах разных этапов популяционного цикла. Суммарные для отдельных территорий показатели численности, оцененные по совокупности репрезентативных по протяженности учетам во всех типах местообитаний в границах каждой территории, варьируют в очень широких пределах, например от 0,8 экз./км (2010 г., Кыштовский р-н Новосибирской области) до 63,7 экз./км (2010 г., приграничная с Кыштовским р-ном территория Муромцевского р-на Омской обл.). Подтаежные территории западнее долины р. Тобол (Тюменская обл.) в целом характеризуются невысокими показателями численности (Ярковский р-н): с 2008 по 2012 г. регистрируемая средняя для территории численность

таежного клеща варьировала 3,4 до 6,5 экз./км. Такие достаточно низкие показатели численности переносчика, по-видимому, типичны для данных территорий (от 3,8 до 13,8 экз./км в период 1964–1970 гг. с инфицированностью менее 3 % – по Галимову, 1975). Кроме того, природные очаги КЭ западнее р. Тобол (Тюменская обл.) характеризуются достаточно низкой эпизоотической активностью, о чем свидетельствует низкий (от 1,8 до 7,7 % у разных видов) уровень иммунных млекопитающих из числа прокормителей преимаго таежного клеща в период сезонной активности клещей (Галимов, 1975), который быстро снижается до нуля после завершения сезонной активности переносчиков.

На территориях Тобол-Ишимского и Ишим-Иртышского междуречий направленность популяционных циклов таежных клещей различна и сопровождается значительной изменчивостью средних для этих территорий показателей численности в интервале 3,9–3,4 экз./км. Тем не менее, в отдельных группах местообитаний на фазах подъема популяционного цикла уровни численности достигают высоких показателей (более 60 экз./км), соответствующих приводимым для территорий подтайги Тюменской области (Катин, Якина, 1989, Якина, 1998). Уровень инфицированности клещей ВКЭ на разных территориях подтаежной зоны и на разных этапах популяционного цикла таежных клещей за временной период с 2006 по 2012 гг. находился в интервале 2–3 %.

В подзоне южной тайги Тобол-Ишимского и Ишим-Иртышского междуречий средние показатели численности таежных клещей для разных территорий (Тюменская и Омская области) за временной период с 1991 по 2014 гг. находились в интервале от 8,2 до 21,9 экз./км, средний для разных территорий уровень инфицированности ВКЭ – в интервале от 2 до 3,2 %. При этом в отдельных группах местообитаний может в разы, а инфицированность – на порядок, превышать средние для территорий показатели. Годы, соответствующие противоположным фазам популяционного цикла таежных клещей (депрессия – пик численности), характеризуются различиями в однородности пространственного распределения вида. Так, в годы высокой численности коэффициент вариации показателей

в пригодных местообитаниях может превышать 90 %, распределение показателей характеризуется выраженной асимметрией кривой распределения $(1,3-2,0) \pm 0,9$ и выраженным положительным эксцессом $(2,8-4,3) \pm 2,0$. Это свидетельствует о том, что численность вида характеризуется значительным разбросом – от очень высоких показателей в группах наиболее благоприятных для вида местообитаний, до очень низких в неблагоприятных местообитаниях. В такие сезоны таежный клещ может встречаться в нетипичных для него стациях. В годы низкой численности (независимо от фазы популяционного цикла) кривая распределения показателя численности достаточно симметрична с более-менее выраженным отрицательным эксцессом.

Уровень инфицированности диких грызунов вирулентным для НБМ вирусом КЭ (Омская область, Тарский р-н, южная тайга) в периоды активности преимаго иксодид (июль – август 1989 и 1990 гг.) составлял в августе 1989 г. – 22,5 %, в июле 1990 г. – 13,2 %. В июле 2014 г. (Омская область, Знаменский р-н, южная тайга) этот показатель составил 13 %, в сентябре – после завершения сезонной активности преимаго таежных клещей (сохранялась активность только *I. trianguliceps*) – 2,1 %. В этот же сезон доля голодных нимф, инфицированных ВКЭ и получивших его в результате трансфазовой передачи от личинок, составила 16,7 %.

Среднетаежные очаги КЭ равнинной части Западной Сибири. Фауна пастбищных иксодовых клещей представлена единственным видом – таежным клещом. В фауне мелких млекопитающих лесных местообитаний абсолютно доминирует красная полевка, являющаяся здесь основным прокормителем преимагинальных фаз развития таежного клеща из числа мелких млекопитающих. В группах пойменных и припойменных водноболотных местообитаний в фауне грызунов доминирующее положение принадлежит полевке-экономке и водяной полевке.

Распределение и показатели численности таежных клещей характеризуются выраженной неравномерностью. Группы местообитаний с высокими показателями численности вида тяготеют к припойменным территориям рр. Обь, Иртыш и их притокам. По мере удаления от пойм численность вида резко сокращается. В литературе (Катин, Пустовалов, 1991)

для окрестностей г. Ханты-Мансийска средние за сезон показатели численности (в экз./км) и инфицированности (в скобках, в %) таежных клещей составляли: 1974 г. – 34,0 (2,0 ± 0,16), 1975 г. – 19,0 (2,29 ± 0,18), 1976 г. – 23,0 (1,2 ± 0,3), 1977 г. – 335,0 (0,9 ± 0,2), 1978 г. – 152,0 (0,1 ± 0,1). По данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по ХМАО-Югра» в годы пиков численности на локальных участках регистрируется численность вида до 150–270 экз./км. Среднемноголетний показатель инфицированности вида для данной территории составлял $1,3 \pm 0,1\%$, что в целом соответствует инфицированности вида на разных административных территориях лесной зоны равнинной части Западной Сибири. Приводимые цифры показывают наличие выраженной популяционной цикличности у таежного клеща на данной территории с характерными для границ ареала «выбросами». По нашим данным (2009 г.), в пойменных и припойменных группах местообитаний Ханты-Мансийского р-на ХМАО восточнее окружного центра численность таежных клещей варьировала от 18,0 до 80,7 экз./км, инфицированность – от 0 до 6,5 %, на территории Нижневартовского района (левобережье р. Обь) – соответственно от 27,0 до 49,5 (от 0 до 1,5 %). На удаленных от поймы территориях численность клещей варьировала от 0,5 до 5,7 экз./км. На правобережных территориях р. Обь таежный клещ проникает в зону вечной мерзлоты исключительно вдоль пойм правых притоков р. Обь и по инженерным коммуникациям (трассы, отсыпки нефтегазопромысловых месторождений) на удаление до 40 км от поймы (Якименко и др., 2013), где его численность варьирует от 0,3 до 2,0 экз./км. Севернее указанных территорий таежный клещ проникает вдоль поймы р. Обь ниже окружного центра (до линии пос. Ягурьях – пос. Кедровый и окрестностей пос. Большой Атлым Октябрьского района). В Зауральской части округа наиболее высокие показатели численности таежного клеща отмечены для Леушинской возвышенности (до 70–150 экз./км).

Такое распределение переносчиков в целом соответствует интенсивности эпидемического процесса КЭ на разных административных территориях округа. Наиболее высокие показатели и регулярная заболеваемость в ХМАО-Югра (1990–2005 гг.)

регистрируются в Ханты-Мансийском (от 5,05 случаев на 100 тыс. населения в 1991 г. до 78,84 – в 1996 г.) и Кондинском (от 2,99 в 1991 и 2002 гг. до 80,66 – в 1996 г. при отсутствии регистрации в 1992–1994 гг.) районах. Регулярная заболеваемость на относительно невысоком уровне регистрируется также в Нефтеюганском р-не (за указанный период – максимум – в 1999 г. – 12,59). На остальной территории округа заболеваемость носит спорадический характер.

Продолжительность развития таежных клещей от яйца до имаго составляет 2–4 года (Пустовалов, 1998), что может обеспечивать сложный возрастной (календарный возраст) состав в сезонных группировках клещей. Данным автором указывается на наличие циклических процессов в динамике численности переносчика с большим (8–10 лет) периодом. Нами (2009 г.) оценивался возрастной состав таежных клещей (физиологический возраст) в условиях разных групп местообитаний и на разных территориях округа. Несмотря на то, что в целом по восточной части округа (к востоку от р. Иртыш, выше устья), отмечалась восходящая фаза популяционного цикла, что отражалось на абсолютном преобладании в выборках молодых клещей (от 53,3 % до 98,3 % у самок и 53,6 % до 100 % у самцов), в некоторых группах местообитаний (темнохвойные леса, смешанные леса) отмечался иной возрастной состав (50–80 % зрелых и старых особей). Кроме того, фазы популяционного цикла у таежного клеща на указанной и зауральской (Кондинский район) территориях имели противоположную направленность (подъем и спад численности, соответственно). Как и на других лесных территориях Западной Сибири, возрастной состав группировок самок и самцов может значительно различаться, замещение группировок самцов физиологически молодыми особями происходит быстрее, чем у самок, старые самцы элиминируются быстрее самок.

Инфицированность красной полевки высоковирулентным для новорожденных белых мышей вирусом КЭ в период сезонной активности личинок и нимф *I. persulcatus* превышает 9 %, что в целом соответствует уровням инфицированности прокормителей на других территориях лесной зоны в пределах ареала таежного клеща. Вирус представлен сибирским субтипом, геновариант «Заусаев».

Правобережное Приобье. Для данной территории, ограниченной с востока Салаирским Кряжем, характерно высокое разнообразие для фауны иксодовых клещей как в целом (девять видов в составе двух родов), так и для пастбищных иксодид (пять видов), в частности. Разнообразие типов местообитаний (приобские ленточные сосновые боры, горная тайга Салаира, лесостепные предгорья) обеспечивают высокую мозаичность распределения переносчиков.

На протяжении всего периода исследований КЭ в Новосибирской области, данная территория всегда вносила существенный вклад (1961–1969 гг. – от 24,4 % до 58,3 %) в структуру заболеваемости населения КЭ (Заломаев, 1970). Данная тенденция сохранилась и в начале XXI века (рис. 1.3.18).

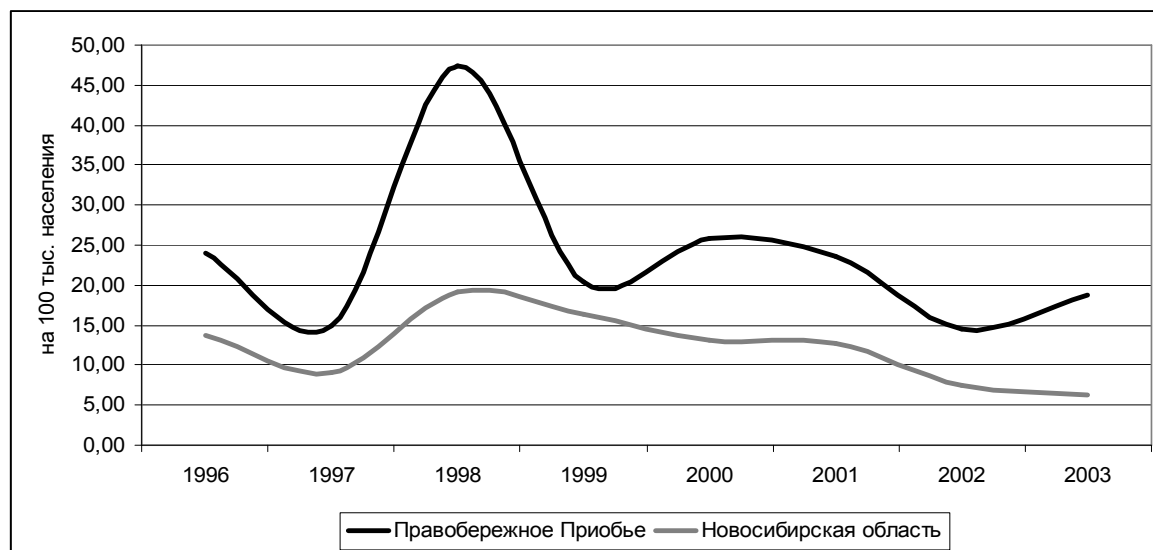


Рисунок 1.3.18. Динамика заболеваемости населения (на основании официальной регистрации заболеваемости) в очагах КЭ Правобережного Приобья (шесть сельских районов) и Новосибирской области в целом.

Доминирующее положение в структуре фауны переносчиков практически повсеместно (кроме лесопарковой зоны г. Новосибирска, где он уступает *I. pavlovskiyi*) занимает таежный клещ. Сезонная активность вида, как правило, завершается в третьей декаде июня, редко – позднее, а лесостепных и лесных предгорьях Салаира (Тогучинский р-н) характерна высокая численность вида (соответственно – от 50,4 до 82,0 экз./км в 2011 г., 19,8–67,5 – в 2013 г.), в то же время для горной тайги вероятно

характерны более низкие и выровненные показатели численности (2011 г., 2013 г. – 8,3 и 10,9 экз./км). По-видимому, такой эффект в характере распространения таежного клеща для Салаира типичен (0,2–4,2 экз./км, по Окуловой, 1987), как и наличие локальных участков с высокой (до 70 экз./км) численностью переносчиков. Регистрируемая инфицированность таежных клещей высоковирулентным для новорожденных белых мышей вирусом КЭ в 2011 г. составляла для лесостепных предгорных территорий от 2,0 до 2,9 %, для горной тайги – 3,2 %. Эпизоотический процесс в очагах интенсивен, о чем свидетельствует высокий (40–70 %%) уровень иммунных грызунов из числа прокормителей таежного клеща (Окулова, 1987).

В приобских ленточных сосновых борах за пределами лесопарковой зоны г. Новосибирска численность таежного клеща составляла 53,1 экз./км в 2011 г., 31,2 – в 2012 г., *I. pavlovskyi* – от 1,4 до 6,7 экз./км. В лесопарковой зоне г. Новосибирска соотношение численности этих видов имеет обратный характер, сложившийся, вероятно, в начале 2000-х. Численность таежного клеща в настоящее время – в интервале от 0 до 6,5 (ср. 3,1) экз./км в 2011 г.; от 1,5 до 11,4 (ср. 1,8) экз./км в 2012 г.; *I. pavlovskyi* в тех же местообитаниях – от 10,8 до 22,5 (ср. 15,6) экз./км в 2011 г., от 2,0 до 77,4 (ср. 7,3) экз./км в 2012 г. В 2013 г. численность *I. pavlovskyi* составила 18,5 экз./км, *Ix. persulcatus* – до 4 экз./км, лугового клеща – 11,5 экз./км.

Аналогичная ситуация в начале XXI в. наблюдается только в рекреационной зоне г. Томска. Следует отметить, что в целом для данной территории характер распределения и уровень численности таежного клеща в общем остался на том же уровне, что и 20–30 лет назад (Добротворский, 1992) – максимум численности давали лиственные леса (около 13 экз./км) и кустарники вдоль ручьев (до 19 экз./км). Инфицированность *I. pavlovskyi* ВКЭ в 2011 г. составила около 5 %, в 2012 г. – 3,6 %. Вне рекреационной зоны сходную ситуацию с содоминированием этих видов отмечали только на крайнем западе Тогучинского района Новосибирской области в бассейне р. Иня, где средняя численность таежного клеща и *I. pavlovskyi* (2012 г.) составила, соответственно, 13,9 и 10,4 экз./км. Инфицированность ВКЭ *I. pavlovskyi* составила здесь около 8 %.

Для динамики численности имаго таежных клещей на данной территории характерно сочетание 3–4-летней циклической (что в целом соответствует цикличности в динамике заболеваемости на данной территории), накладывающейся на цикличность большей (7–10 лет) протяженности (Добротворский, 1992). Для территории характерны высокие (более 20-кратных) колебания показателей прокормления личинок и нимф таежных клещей в разные годы, при этом размах колебаний показателей обилия на грызунах еще выше (37-кратные – для личинок, 42-кратные – для нимф) на фоне среднего размаха колебаний (шестикратные) численности прокормителей. Обращает на себя внимание положительная корреляция между обилием имаго таежного клеща в текущем году с численностью млекопитающих в предыдущем ($r = 0,95$) – это позволяет предполагать, что развитие этого вида до имаго идет здесь, как и в северной подзоне Ишимской лесостепи, преимущественно, с бездиапаузным развитием личинок (см. выше). Это согласуется с высокой положительной корреляцией обилия имаго в текущем сезоне с показателями прокормления нимф в предшествующем ($r = 0,64$).

Кроме клещей р. *Ixodes*, фауна пастбищных клещей приобских лесостепных территорий представлена тремя видами клещей р. *Dermacentor*. Кроме широко распространенных в лесостепи Западной Сибири лугового и степного клещей, здесь появляется лесостепной клещ *D. silvarum*. В условиях совместного обитания средняя численность лугового и лесостепного клещей в 2012 г. составляла 6,9 и 6,3 экз./км, степного – вдвое ниже; в 2013 г. – *D. reticulatus* – 26,3, *D. marginatus* – 9,3, *I. persulcatus* – 12,2 экз./км, лесостепной клещ в сборах отсутствовал.

О роли позвоночных хозяев и членистоногих переносчиков в процессе формирования штаммового спектра ВКЭ в свете молекулярно-генетических исследований

Использование арбовирусами (в том числе – ВКЭ) в качестве хозяев двух типов организмов – холонокровных членистоногих – и теплокровных позвоночных, определяет своеобразие адаптивных механизмов данной группы живых существ

к существованию в кардинально различающихся условиях. В этой связи следует ожидать, что пребывание возбудителя в организме того или иного типа хозяев сопровождается разнонаправленными селективными изменениями биологических и генетических характеристик возбудителя – должна изменяться популяционно-генетическая структура (Цилинский, 1988, Вотяков и др., 2002).

Изменение биологических свойств штаммов ВКЭ, адаптированных к иксодовым клещам, отмечали С.П.Чунихин с соавт. (Чунихин, Дживанян, 1977, Чунихин и др., 1986): имела место частичная аттенуация штаммов ВКЭ, адаптированных к иксодовым клещам, к млекопитающим. Адаптированные к клещам клоны штаммов вируса КЭ характеризовались различной эффективностью трансвариальной и трансфазовой передачи клещами разных видов (Чунихин, Леонова, 1985). На момент проведения данных экспериментов представления о генетической гетерогенности ВКЭ отсутствовали, что не позволяет в настоящее время интерпретировать эти результаты в свете сегодняшних представлений о политипичности вируса.

Нами в 80-х гг. XX века проводился ряд экспериментов по изучению эффективности трансфазовой передачи двух штаммов ВКЭ (впоследствии была установлена их принадлежность к ДВ-ВКЭ и Сиб-ВКЭ соответственно) разными видами клещей р. *Dermacentor*. В результате было показано, что эффективность трансмиссивного заражения и последующей трансфазовой передачи ВКЭ разных субтипов тремя видами клещей данного рода существенно различаются. Так индивидуальная зараженность сытых личинок *D. nuttalli* ДВ-ВКЭ достигала 92 %, Сиб-ВКЭ – 7,4 %, а *D. silvarum* 0,3 и 0,4 %% соответственно (оба вида – представители «маригинатусной» группы клещей р. *Dermacentor*). После линьки зараженных личинок на нимф, инфицированность последних у *D. nuttalli* ДВ-ВКЭ и Сиб-ВКЭ составила соответственно 0,9 и 4,2 %% , у *D. silvarum* – 3,5 % и от 7,1 до 14 %% , у лугового клеща не различалась и составляла 5,5 %. В свете сегодняшних представлений о гетерогенности состава ВКЭ, результаты этих экспериментов указывают на вероятность селективной роли разных видов переносчиков

в отношении эффективности вертикальной передачи субтипов ВКЭ. С этих же позиций можно интерпретировать и результаты по изучению эффективности трансфазовой передачи тремя видами клещей дальневосточной фауны штаммов ВКЭ, характеризующихся разной периферической активностью (Леонова, 1997), где показана достаточно более высокая эффективность *D. silvarum* и *H. concinna* по сравнению с таежным клещом. Соответственно, существование на территории поливидовой фауны переносчиков, характеризующихся различной динамикой популяционных циклов, способно обеспечивать благополучное существование разных геновидов (субтипов) ВКЭ в природных очагах в условиях мозаичных ландшафтов, с периодической сменой доминанта в эпидемическом и (или) эпизоотическом цикле КЭ.

Ряд экспериментов с вирусом КЭ на иксодовых клещах показывает возможность селекции некоторых штаммовых характеристик (таких как вирулентность для лабораторных животных, бляшечный фенотип, терморезистентность и др.) под воздействием химических препаратов или в ходе длительных пассажей через клещей (Дживанян и др., 1974, 1988). В ходе экспериментальных исследований показано (Дживанян и др., 1999), что длительная адаптация вируса КЭ к организму иксододных клещей (в результате серийных парэнтеральных пассажей на клещах *Hyalomma marginatum*) приводит к устойчивому изменению антигенной специфичности селектированного штамма по сравнению с прототипным. Попытки генетического анализа происходящих изменений в ходе подобных экспериментов показывают наличие синонимических замен в кодирующей части белка Е (Карганова и др., 1999 а). Отмечено изменение свойств поверхностного гликопротеина Е у варианта вируса КЭ, адаптированного к клещам (Карганова и др., 1999 б), а также отмечены изменения в структуре поверхностного белка. Этими авторами подчеркивается, что сравнение нуклеотидных последовательностей фрагментов генома является наиболее адекватным методом для изучения эволюции ВКЭ, так как межштаммовые различия, выявляемые другими методами, могут отражать не различия в свойствах ВКЭ, а разную степень адаптации вируса к клещам и млекопитающим.

Ранее (Igarashi, 1984) сообщалось, что в ходе последовательных пассажей (вирус Синдбис) на культуре клеток млекопитающих происходило постепенное изменение ряда характеристик возбудителя, однако одного пассажа на культуре клеток членистоногих было достаточно для реверсии признаков к дикому типу. На наличие разного селективного воздействия при пассажах вируса через организм клещей и теплокровных указывают и результаты наших экспериментов, базировавшихся на применении МГНК (Якименко и др., 1996). Все использованные в работе штаммы при проведении непрерывных серийных (до 16) пассажей через мозг новорожденных белых мышей (НБМ) в высокой множественности заражения не изменяли фенотип в стандартных условиях культивирования клеток (+ 37⁰C). В условиях культивирования при высоких температурах во всех случаях отмечалось снижение титра вируса на 3–5 Lg и смена фенотипа на мелкобляшечный. Независимо от происхождения штаммов вируса, отмечено изменение характера гибридизации в процессе длительного последовательного пассирования через мозг НБМ, на вариабельных участках структурных генов, кодирующих поверхностные белки (Pr-M, M), капсидный белок (С), и гена NS1, кодирующего одноименный неструктурный белок, функционально связанный со сборкой нуклеокапсида. Однако, в большинстве случаев одного пассажа такого (на уровне 15–16 пассажей через мозг НБМ) штамма через организм иксодового клеща (в качестве модели использовали луговых клещей лабораторной линии) было достаточно, чтобы произошла реверсия характера гибридизации к исходному варианту.

Предполагалось (Мансуров, 1990), что в организме иксодовых клещей репродукция вируса характеризуется накоплением температурно-чувствительных мелкобляшечных вариантов и дефектных неинфекционных форм и носит abortивный характер. Нами в эксперименте с использованием штамма ВКЭ (Сиб-ВКЭ) с устойчивым среднебляшечным фенотипом показано формирование в организме клещей *D. reticulatus* преимущественно мелкобляшечного фенотипа вируса: при последовательных интрацелломальных пассажах вируса через организм клещей формировался преимущественно мелкобляшечный

фенотип вируса (в отдельных случаях появлялись крупные бляшки), с титром, не превышающим $2,0 \lg \text{БОЕ}_{50/0,03}$. При культивировании такого вируса при температуре выше $+40^{\circ}\text{C}$ наблюдалась диссоциация с формированием средних и мелких бляшек (с преобладанием первых). Результаты данного эксперимента позволяют предполагать, что фенотип ВКЭ, формирующийся при длительной репродукции вируса в организме иксодид без промежуточных пассажей на теплокровных, вероятно, повышает эффективность передачи позвоночному при контакте клеща с последним – именно с этим может быть связано восстановление исходного фенотипа при высоких температурах культивирования, и появление диссоциации. В нашем варианте к этому приводят последовательные пассажи на клещах, а в естественных условиях – изменение популяционно-генетической структуры вируса в ходе метаморфоза при трансфазовой передаче от личинок взрослым особям, а также в период пребывания вируса в организме взрослой особи на протяжении её существования в голодном состоянии, что может превышать два-три года. Следует особо отметить, что в наших экспериментах мелкобляшечный фенотип в последующих пассажах всегда сопровождался диссоциацией с появлением бляшек крупного и (или) среднего размера.

Таким образом, вирус, инфицирующий взрослую особь иксодового клеща в результате вертикального (трансовариальная и последующие трансфазовые передачи) или горизонтального (трансмиссия при питании одной из активных фаз развития) переноса, в условиях длительного существования в организме членистоногого при отсутствии пассирования через организм теплокровного, претерпевает определенные изменения популяционно-генетического состава. По-видимому, характер этих изменений будет зависеть и от характеристик инфицирующего вируса, то есть принцип основателя в этом случае должен иметь место. Темпы накопления вирусной РНК в клещах позволяют предполагать, что популяционно-генетическая структура штамма в организме иксодоидных клещей формируется в момент инфицирования клеща за счет ограниченного числа вирусных частиц и независимо от инфицирующей дозы,

по схеме низкой множественности заражения. В принципе, в настоящее время селективная роль членистоногих переносчиков в отношении возбудителей никем не оспаривается, несмотря на неизученность самого механизма. Длительная персистенция вируса в организме переносчика неизбежно приводит к изменению биологических характеристик возбудителя (репродуктивной активности, патогенности, термостабильности и др.).

Высокая гетерогенность вирусных популяций, изолируемых от иксодовых клещей, с характерной неустойчивостью при проведении лабораторных пассажей (Карганова и др., 1999 б), уже на ранних этапах исследования этой проблемы позволяла предполагать применимость концепции «квазивида» к вирусам (см. Раздел 3).

Несколько по-другому складываются представления о селективной роли теплокровных хозяев вируса. Первоначально роль теплокровных сводилась к диссеминации вируса в пространстве в течение достаточно короткого периода времени с момента инфицирования. Эксперименты, проводимые на грызунах разных систематических групп из числа естественных хозяев вирусов КЭ и ОГЛ, как правило, сводились к оценке напряженности виремии и возможности клинических проявлений инфекции (Пчелкина и др., 1969; Харитоновна, Леонов, 1978; Наумов и др., 1984). Общий итог этих экспериментов заключается в том, что большинство исследованных видов диких грызунов восприимчивы, но нечувствительны (за редким исключением) к заражению штаммами западного и восточного варианта ВКЭ даже при введении высоких доз вируса. Во всех случаях был отмечен период виремии около двух недель, в редких случаях (напр., узкочерепные полевки, зараженные ДВ-ВКЭ штаммом Софьин в высокой заражающей дозе) наблюдались клинические проявления. При таком подходе рассматривать теплокровных, как хозяев вируса, необоснованно, так как основную по продолжительности часть своего жизненного цикла он проводит в клеще, который, собственно, и является его хозяином. Однако в лабораторных экспериментах с использованием разных видов мелких млекопитающих было показано (Чунихин и др., 1982, Чунихин, Леонова, 1985), что уровни

вирусемии в крови этих видов при заражении разными штаммами ВКЭ, существенно различаются, и в ряде случаев титр вируса в крови недостаточен для инфицирования личинок и нимф иксодовых клещей. По результатам данных экспериментов авторами была предложена концепция, отражающая разное функциональное значение отдельных видов позвоночных в репродукции вирусов. Виды, являющиеся эффективными продуцентами вируса, названы ими «продуцентами», тогда как виды с низкой восприимчивостью к в тому или иному вирусу и (или) не обеспечивающие достаточный уровень и продолжительность вирусемии, являются «супрессорами», способствующими элиминации вируса. В результате проведенных экспериментов была показана различная роль рыжей полевки (*Myodes glareolus*), ареал которой доходит в восточном направлении до Алтая, в европейских очагах КЭ, где она является видом-супрессором, и в азиатских, где она выступает в качестве вида-амплификатора (Чунихин и др., 1981). Так как на данный момент представлений о генетическом разнообразии вируса КЭ еще не существовало, результаты этих экспериментов позволяют предполагать, что данный вид, являющийся одним из прокормителей таежного клеща в Западной Сибири, является амплификатором в отношении Сиб-ВКЭ. К этой группе (Вотьяков и др., 2002) также были отнесены полевки р. *Microtus* и некоторые виды р. *Myodes*, к группе супрессоров – представители сем. Мышиных (р. *Apodemus*) и отр. Насекомоядных (обыкновенная бурозубка *Sorex araneus*). В целом функция «амплификатор – супрессор» может иметь более сложную природу, нежели принадлежность вида теплокровного той или иной систематической группе. На эту мысль наводят результаты экспериментов Г.Н. Леоновой (1997) с несколькими видами грызунов дальневосточной фауны и штаммами ВКЭ с различным уровнем периферической активности. К сожалению на период проведения данных экспериментов информации о генотипической принадлежности ВКЭ, задействованных в опыте, не было. Но учитывая доминирование в структуре очагов КЭ в Приморье ДВ-ВКЭ, можно допускать, что были использованы вирусы одного генотипа. В таком случае результаты опытов определенно

свидетельствуют об изменении роли разных видов грызунов из числа прокормителей иксодовых клещей в поддержании циркуляции штаммов одного генотипа, но характеризующихся различным фенотипом.

Можно предполагать, что причиной разной амплификационно-супрессорной функции отдельных видов теплокровных может иметь не только их принадлежность той или иной систематической группе, но и изменение их значения в качестве прокормителей переносчиков. Речь идет о формировании у теплокровных в течение сезона активности переносчиков антивирусного и т.н. «акарицидного» иммунитета (Вотьяков и др., 2002). Действительно, в течение сезона активности иксодовых клещей, в популяциях прокормителей нарастает доля иммунных к КЭ особей (см. выше). Причем в старших возрастных группах (перезимовавших животных и первых весенне-летних генераций) уровень таких иммунных особей во второй половине лета может приближаться к 100 %. При этом даже в организме видов-амплификаторов, иммунных к КЭ, блокируется возможность развития вирусемии, по крайней мере до уровней (Леонова, 1997), достаточных для инфицирования питающихся на животном клещей ($2,0-4,2 \lg LD_{50}$), чем прерывается эффективный механизм трансмиссивного заражения. Единственным возможным механизмом заражения клещей на иммунном животном остается механизм транспиальной передачи возбудителя (то есть виды-амплификаторы переходят в статус супрессоров). Амплификаторами на данный период времени остаются только поздние возрастные группы рождения второй половины лета и начала осени.

Кроме того, предполагая разную роль одного и того же вида теплокровных в отношении отдельных субтипов вируса, изменение в структуре населения прокормителей, вызванные естественной динамикой популяционных циклов, вполне может быть причиной появления в структуре очага «минорных» вариантов вируса и усиления их роли в структуре заболеваемости населения территории.

Действительно ли существование ВКЭ в организме теплокровного ограничивается коротким периодом, сопровождающимся всплеском вирусемии? Первоначально поводом изучения

возможности персистенции вируса в организме теплокровных было связано с необходимостью выяснения механизмов возникновения хронического КЭ у человека. Именно роль персистирующего вируса была установлена в развитии хронического КЭ (Погодина и др., 1981, 1984, 1986, и др.). Было показано, что на формирование персистенции возбудителя оказывают влияние и иммунные факторы организма.

В лабораторном эксперименте (Белявская, 1987) при изучении механизмов формирования персистенции ВКЭ у белых мышей, вирусологическими, морфологическими и иммунологическими методами был установлен феномен персистенции ВКЭ до 200 суток (время эксперимента), в том числе – и при заражении высоковирулентными штаммами. Вирус депонировался в головном мозге и селезенке. Специфическая иммунизация инфицированных мышей приводила к нейтрализации вируса в крови, но при достижении вируса «депо» размножение не блокировалось. Штаммы вируса, изолированные от мышей с хронической формой КЭ, приобретали отличия от исходных по ряду генетических маркеров – формировался мелкобляшечный вариант вируса, приобретался признак термостабильности, снижались вирулентность, гемагглютинирующая активность.

К изучению вопроса возможности персистенции ВКЭ в организме прокормителей иксодовых клещей вернулись в конце XX века (Бахвалова и др., 2001). Авторами было обращено внимание на выявление РНК ВКЭ в органах (мозг, селезенка, печень) перезимовавших полевков и бурозубок на фоне отсутствия выявления инфекционного вируса. Персистенция ВКЭ изучалась в эксперименте (Чичерина и др., 2014) на естественных прокормителях таежного клеща (красная полевка и полевая мышь). Животных, у которых проводился предварительный контроль спонтанной инфицированности ВКЭ и их иммунного статуса, заражали вирусосодержащей суспензией, приготовленной из вирофорных клещей, и содержащей смесь Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ. В результате авторами на экспериментальных животных наблюдалась латентное течение инфекционного процесса (до 30 суток) с последующим формированием персистенции вируса (до 120 суток – время наблюдения).

Результаты этого эксперимента показывают (как и в случае экспериментов на лабораторных животных – см. выше), что персистирующий вирус депонируется в мозге и селезенке опытных животных (как у красной полевки, так и полевой мыши), с периодическими всплесками виремии. На основании этих же экспериментов можно предполагать различную селективную роль опытных видов в отношении ВКЭ разных субтипов. При трансмиссии ВКЭ от клещей к млекопитающим (Bakhvalova et al., 2011) отмечены единичные нуклеотидные замены в генах E и NS1, только часть которых приводит (вследствие вырожденности генетического кода) к аминокислотным заменам. Авторы отмечают наличие множественных делеций для структур 3'-UTR генома ВКЭ, адаптированного к переносчикам, тогда как для персистирующего в млекопитающих вируса характерны более длинные и гетерогенные последовательности в этой области.

Таким образом, разными авторами и в разные периоды времени были показаны изменения биологических, а в дальнейшем – молекулярно-генетических характеристик ВКЭ при смене хозяев (клещи – теплокровные). Фактически эти изменения затрагивают, по-видимому, одни и те же участки генома, как правило – это синонимические замены на переменных участках кодирующей части генома. В последнее время показаны изменения концевых фрагментов (3'-UTR) генома при трансмиссии вируса. Наряду с очевидной ролью переносчиков в детерминации свойств возбудителя, показано наличие персистенции вируса в организме теплокровных. Наличие сходных изменений ряда генетически детерминированных фенотипических признаков штаммов ВКЭ при длительной персистенции вируса в организме клещей и теплокровных, позволяет предполагать наличие некоего универсального механизма селективного воздействия на возбудитель. Однако, в случае теплокровных, на сегодня неясна роль этого феномена (персистенции) в жизненной схеме вируса и в эпидемическом процессе.

При трактовке адаптивных изменений, происходящих в геноме вирусов при смене хозяина, существует два основных подхода – таковые изменения закодированы в достаточно консервативной структуре вирусной РНК и реализуются при внедрении

в клетку, или вирусная популяция изначально гетерогенна, то есть варианты вируса, обладающие селективным преимуществом к репродукции или в организме клещей, или млекопитающих, существуют в составе популяции (напр., Романова, 2006), а не возникают в процессе инфицирования. В лабораторном эксперименте (Мансуров, 1990) было показано, что при заражении лабораторных животных вирусом КЭ в низкой множественности заражения формируется активная вирусная популяция с более высоким инфекционным титром и уровнем геммагглютинирующей активности, чем в случае высокой множественности заражения. Учитывая эти данные о наибольшей эффективности репродукции вируса при низкой множественности заражения ВКЭ, по сути объясняющей механизм «бутылочного горлышка» при формировании совокупности вирусных частиц в организме членистоногого или теплокровного, возникает вопрос о «родоначальнике» – совокупности вирусных частиц, в геноме которых заложен механизм переключения на тот или иной тип организма хозяина.

Заключение

Итак, можно говорить о том, что в пределах Западной Сибири ареал вируса КЭ характеризуется широким распространением, по-видимому мало изменяющимся во времени, намного превышающим нозоареал инфекции, границы которого претерпевают постоянные изменения. Последнее определяется естественными (изменение природно-климатических условий под влиянием естественных причин) и искусственными (природопользование, в том числе – его интенсификация или, напротив, деградация, на фоне тенденций экономического развития страны) причинами. Западная Сибирь, в силу ландшафтно-географических особенностей территории, вносит существенный вклад в структуру заболеваемости населения РФ клещевым энцефалитом. В пределах отдельных административных территорий региона (в разрезе административных районов субъектов РФ) эпидемический процесс может подчиняться общим закономерностям. Причинами этого, по-видимому,

являются природные факторы, часто определяющиеся общностью и ландшафтным однообразием территории, и характер социально-экономических факторов, влияющих на частоту контактов населения с переносчиками инфекции, что – наряду со специфической вакцинацией – влияет на уровень популяционного иммунитета к вирусу КЭ у населения. В пределах территорий региона с выявленными общими тенденциями в развитии эпидемической активности природных очагов возможен прогноз состояния очагов на основе анализа как природных компонент (например, состояние популяций переносчиков), так и на основе формализованных подходов анализа динамики заболеваемости. Примером последнего могут служить графики ковариации рядов заболеваемости КЭ на административных территориях субъектов федерации, нарушение которой свидетельствует об изменении условий состояния эпидемической активности на той или иной территории, что, в свою очередь, предполагает усиление контроля за такой территорией и изменение мер профилактики. Ведущей мерой специфической профилактики КЭ была и остается вакцинация, объемы которой для большинства территорий Западной Сибири со средним и высоким уровнями заболеваемости населения недостаточны для существенного изменения ситуации. Но, учитывая точечный характер применения акарицидных обработок, площадь которых составляет, как правило, сотые доли процента от площади очаговых территорий региона, а также ограниченные масштабы иммуноглобулинопрофилактики КЭ, вакцинация остается единственным эффективным средством воздействия на заболеваемость населения в регионе. По опыту европейских государств вакцинации отводится существенное значение в формировании популяционного иммунитета населения. При внедрении массовой вакцинации на эндемичных территориях, многолетняя картина динамики заболеваемости становится схожей (с учетом разницы временных масштабов) с таковой, наблюдаемой при развитии быстропротекающих эпидемий в популяциях, изначально не обладающих иммунитетом к возбудителю болезни (Heinz et al., 2013), так как снижает численность группы населения, потенциально восприимчивой к возбудителю.

Однако в данной системе эпиднадзора до настоящего времени остается неоднозначной роль генетического разнообразия циркулирующих вариантов вируса КЭ. Генетическая структура циркулирующих в регионе штаммов ВКЭ, принадлежащих разным субтипам (геновидам) и геновариантам отдельных субтипов (генетическим линиям), характеризуется высоким разнообразием и выраженной неоднородностью распределения по территории Западной Сибири. Высокое разнообразие циркулирующих вариантов ВКЭ (вне зависимости от доминанта) может являться причиной значимого вклада региона в структуру заболеваемости населения РФ клещевым энцефалитом.

Выраженное генетическое разнообразие ВКЭ в регионе может являться следствием многократных изменений природно-климатических условий региона за последнее тысячелетие, сопровождающееся многочисленными миграциями масс людей. Такие совокупные изменения приводили к ландшафтным изменениям (прежде всего – на юге территории), и, соответственно, к изменению границ ландшафтных зон и структуры очаговых экосистем. Так как возбудитель является облигатным внуклеточным двуххозяиным (с точки зрения клеточной организации) паразитом, его эволюция неотвратимо связана с эволюцией теплокровных и переносчиков из числа членистоногих. Многократные изменения видового состава переносчиков и их прокормителей, происходившие в историческом прошлом в структуре очагов инфекций, возбудители которых передаются членистоногими, фактически должны сформировать тот «слоеный пирог» разнообразия патогенов (в том числе и ВКЭ), который мы наблюдаем в настоящее время.

Оценки периодов формирования прототипных вариантов и дивергенции в процессе эволюции как данного вируса, так, вероятно, и многих других, имеющих трансмиссивный путь передачи, недостаточно проводить только на основании анализа особенностей структуры геномов патогенов. Необходимым, с нашей точки зрения, является совокупный филогенетический анализ формирования структуры паразитарной системы очага (возбудитель, членистоногое, теплокровное). Определение на отдельных территориях геновариантного состава каждого

из сочленов, оценка их разнообразия в целом на эндемичной по КЭ территории (как региона, так и РФ в целом) с нашей точки зрения является актуальным предметом исследований современного периода и ближайшей перспективы.

Причины, обеспечивающие существование генетического разнообразия патогенов в условиях сосуществования (по существу – проявление межвидовой конкуренции на микроуровне), на сегодня остаются недостаточно изученными по объективным причинам – до недавнего времени отсутствовал механизм контроля динамических изменений структуры геномов возбудителей. Широкое внедрение в практику научных исследований молекулярно-генетических методов позволяет такие наблюдения проводить, однако накопление данных в этом направлении происходит медленно. Результаты проводимых в настоящее время исследований инфицированности вирусом КЭ членистоногих переносчиков и чувствительных и (или) восприимчивых теплокровных, достаточно регулярно показывают наличие у них микст-инфицирования разными генотипами и (или) геновариантами вируса. Это регистрируется практически повсеместно, независимо от доминирующего в очагах субтипа вируса. Виртуальное моделирование процессов сосуществования в принципе объясняет возможные пути существования минорных вариантов вируса. Однако каким образом это происходит в живом организме – вопрос открыт. Одними из наиболее возможных механизмов, обеспечивающих существование минорных форм, могут являться постоянные динамические изменения структуры паразитарной системы очагов, определяемые естественными (циклическими) процессами в популяциях переносчиков и основных групп теплокровных из числа восприимчивых к ВКЭ животных, происходящие на очаговых территориях. Появление (в силу естественной динамики численности) в таких группировках видов с более высокой восприимчивостью к определенному генотипу или геноварианту (генетической линии) – то есть видов-амплификаторов, определено должно приводить к изменению в структуре очага и возможной смене или (как минимум) появлению в эпидемическом цикле минорных для данной территории форм возбудителя.

Основываясь на особенностях формирования структуры генома вируса, определяемых физико-химическими свойствами молекулы РНК (раздел 3), практический интерес представляет поиск механизмов адаптаций к смене хозяев (позвоночное – членистоногое) на генетическом уровне. Проведенные предварительные исследования показывают зависимый характер изменений, происходящих в геноме вирусов, проявляющийся в комплексе связанных изменений на разных, пространственно удаленных участках генома, и эта особенность определяется свойствами молекулы РНК. Накладываемые структурные ограничения, по-видимому, связаны с пространственной конформацией молекулы РНК в вирионе. Каким образом в этой связи могут происходить хозяин-зависимые изменения структуры генома вируса и какие участки генома они могут затрагивать, не изменяя уровня приспособленности возбудителя в стационарных условиях (исключающих кардинальные изменения в структуре очагов), в настоящее время остается открытым вопросом.

Глава 1.4. Лихорадка Кемерово

Общая характеристика

Инфекционным агентом лихорадки Кемерово является вирус Кемерово, входящий в состав сем. Реовирусы (*Reoviridae*), р. Орбивирус (*Orbivirus*). Кроме данного рода, в состав семейства входят еще 11 родов вирусов, выделяемых на основании строения генома и вирионов, антигенных и генетических связей, способности заражать определенные виды живых организмов. Все представители (более 150 орбивирусов в составе 21 серокомплекса), объединенные в р. Орбивирус, являются типичными арбовирусами. Масса вириона 108 МДа. Геном представлен двуцепочечной сегментированной (10 сегментов) РНК (19 200 н.п.), вирион лишен липидной оболочки, что делает его более стабильным (по сравнению с вирусами, имеющими липидсодержащую оболочку) к детергентам и органическим растворителям. РНК-содержащий капсид организован в виде концентрических белковых слоев. Внутренний капсидный слой содержит белки транскриптазного комплекса. Эффективность транскрипции сегментов геномной РНК различна, на коротких сегментах формируется наибольшее число копий. Вирионы стабильны в диапазоне рН 6,5–10,2, при субнулевых положительных температурах и рН 8,0. В сыворотке крови или растворе альбумина вирус сохраняет инфекционность более года. Вирусы антигенного комплекса Кемерово имеют тесные экологические связи с перелетными птицами, что обеспечивает возможность их переноса на большие расстояния (Мед вирусология, 2008).

История открытия

Вирус Кемерово впервые выделен и описан, как инфекционный агент клещевой вирусной лихорадки в 1962 г. в ходе комплексных исследований, проводимых под руководством акад. М.П.Чумакова на территории Кемеровской области: вирус был изолирован из цереброспинальной жидкости больного энцефалитом человека и от таежных клещей. В этот же период регистрировалась спорадическая заболеваемость населения

данной территории. По-видимому, в связи с тем, что вирусы КЭ и Кемерово на севере Евразии существуют в сходных экологических условиях, их ареалы перекрываются, и их эпидемически значимыми переносчиками являются одни и те же виды пастбищных иксодовых клещей, заболеваемость населения нейроинфекциями относили исключительно на предмет КЭ. Однако, в очагах КЭ доля заболеваний с неустановленной этиологией (по данным М.П. Чумакова с соавт., 1967) составляла от 40 до 65 % к общему числу случаев, ежегодно регистрируемых с подозрением на клещевой энцефалит. По данным М.П. Чумакова с сотрудниками (1968) в пробах сыворотки крови лихорадящих больных из Кемеровской области были обнаружены специфические антитела к вирусу Кемерово (штамм Усково) при отсутствии антител к вирусу клещевого энцефалита. Среди людей доля серопозитивных к лихорадке Кемерово регистрировалась только в 2,8 % случаев. В связи с низкой частотой обнаружения антител к вирусам группы Кемерово в сыворотках крови людей высказывалось предположение, что некоторое количество людей переносит субклиническую инфекцию.

В последующий период и до настоящего времени регистрация заболеваемости отсутствует, тем не менее при исследовании 209 сывороток крови больных с лихорадкой неясной этиологии с территории Омской области (после 2000 г.), проведенные совместно ФБУН «Омским НИИ природно-очаговых инфекций» и ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, иммуноглобулины класса G к вирусу Кемерово были обнаружены у 18 человек (8,6 %).

Исследования 60-х гг. прошлого века показали наличие вирусов, имеющих высокое антигенное сходство с вирусом Кемерово, на территории бывшей Чехословакии (1963–1965 гг.), получившие по местам изоляции названия Трибеч, Липовник и Колиба. Вирусы были изолированы из иксодовых клещей *I. ricinus*, образцов крови грызунов и домашних коз, полученных с территории природного очага КЭ. В дальнейшем вирусы, антигенно близкие вирусу Трибеч, были изолированы на территории Румынии. Впоследствии, в 1966 г., Р. Тейлором было опубликовано сообщение об изоляции из аргасовых клещей с территории Египта антигенно близких вирусу Кемерово

изолятов, получивших название вирус Ченуда. К 1960 г. в Южной Африке от аргассовых клещей – паразитов голубей и ласточек, был изолирован ряд штаммов вирусов, антигенно близких Ченуда. Последующие исследования, проводимые в 60-х гг. XX века в Северной (США) и Южной (Перу) Америке, Ближнем Востоке, Индонезии и странах Юго-Восточной Азии показали широкое распространение вирусов группы Кемерово, образующих три (Кемерово, Ченуда и Ван-Медани) антигенных комплекса (цит. по Семашко, 1971, Михайловой, 1974).

После описания вируса Кемерово в 1962 г. основные исследования в данном направлении на территории региона были приурочены к Кемеровской области. В последующие годы вирус неоднократно изолировали из таежных клещей с территории Кемеровской области, вирус также обнаружили на Урале (Свердловская область), в 1963 г. – в зоне строительства Красноярской ГЭС (по Семашко, 1971), с 1963 по 1967 гг. – в Новосибирской области на правобережных территориях Оби (Тарасевич и др., 1970 а, б). Штаммы изолированы из таежных клещей, спинно-мозговой жидкости лихорадящих больных; крови обыкновенной горихвостки (*Phoeniciris phoenicurus*). Последующие исследования данной инфекции в регионе были возобновлены через 50 лет.

Генетическое разнообразие и распространение

В настоящее время в базе данных GenBank содержится три последовательности сегмента 1 генома вируса Кемерово (ВК): штамм EgAn 1169-61 (HM543481, HQ266591), выделенный в Египте в 1961 г. из горихвостки *Phoenicurus ochruros*, и штамм 21/10 (KC288130), выделенный из клещей *I. persulcatus* в Кемеровской области в 1968 г.

По результатам исследования клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi* с разных, географически удаленных территорий Западной Сибири и Алтая, проведено сравнение РНК-изолятов вируса Кемерово из пригорода г. Новосибирска, окрестностей реки Шадриха, Салаирского края в Новосибирской области; с северного и северо-восточного Алтая; из Омской области и территории Республики Казахстан между собой и с последовательностями, имеющимися в GenBank.

Как и следовало ожидать, последовательности исследуемых изолятов ВК с Новосибирской (окрестности реки Шадриха и Салаирский Кряж) и Омской областей, Северного и Северо-Восточного Алтая и Казахстана демонстрировали наибольший уровень гомологии (95–96 %) с последовательностью штамма 21/10 ВК из Западной Сибири. Тем не менее, последовательности изолятов ВК, найденных в пригороде г. Новосибирска и окрестностях реки Шадриха Новосибирской области, обладали большей гомологией (93 %) со штаммом EgAn 1169-61 ВК из Египта. Следует отметить, что последовательности фрагмента сегмента 1 выявленных изолятов вируса Кемерово существенно отличались от таковых у штаммов, выделенных в 60-ые годы XX века, что, вероятно, может свидетельствовать о продолжающемся процессе эволюции орбивирусов.

Анализируемые последовательности фрагмента сегмента 1 генома вируса Кемерово формировали три кластера на дендрограмме (Рис. 1.4.1). Кластер I включал в себя изоляты вируса Кемерово из Омской области, Салаирского кряжа, Северо-Восточного Алтая и Казахстана. Кластер II содержал изоляты окрестностей реки Шадриха и Северного Алтая. Кластер III соответствовал изолятам вируса, найденным в Ботаническом саду и окрестностях реки Шадриха пригорода г. Новосибирска. Штаммы вируса Кемерово из GenBank формировали отдельные кластеры IV и V, не включающие ни один из изучаемых изолятов вируса.

Для исследования генетического разнообразия изолятов вируса Кемерово, были также определены последовательности фрагментов сегмента 2 изолятов вируса, выделенных в Ботаническом саду пригорода г. Новосибирска, окрестностей реки Шадриха, Омской области и Северного Алтая в 2011–2015 гг. Анализ уровней гомологии последовательностей фрагментов сегмента 2 генома вируса Кемерово показал, что изоляты из окрестностей реки Шадриха Новосибирской области, из Омской области и Северного Алтая имели наибольший уровень гомологии имели больший уровень гомологии со штаммом EgAn 1169-61 из Египта (97–98 %), тогда как фрагментов сегмента 1 генома – со штаммом 21/10 из Западной Сибири (95 %),

что может свидетельствовать о возможной реассортации сегментов генома вируса. В это же время, изолят из Ботанического сада пригорода г. Новосибирска имел высокий уровень гомологии фрагментов сегментов 1 и 2 со штаммом EgAn 1169-61 (93% и 98%, соответственно). О феномене возможной реассортации в геномах исследуемых изолятов вируса Кемерово свидетельствует и различная топология дендрограмм, основанных на последовательностях фрагментов сегментов 1 и 2 генома вируса (подтверждается статистически значимыми уровнями индексов поддержки, не показано). Полученные данные могут свидетельствовать о возможной реассортации предковых вариантов вируса Кемерово в Западной Сибири, при которой произошла фиксация определенной последовательности сегмента 2 генома, кодирующего белок VP3.

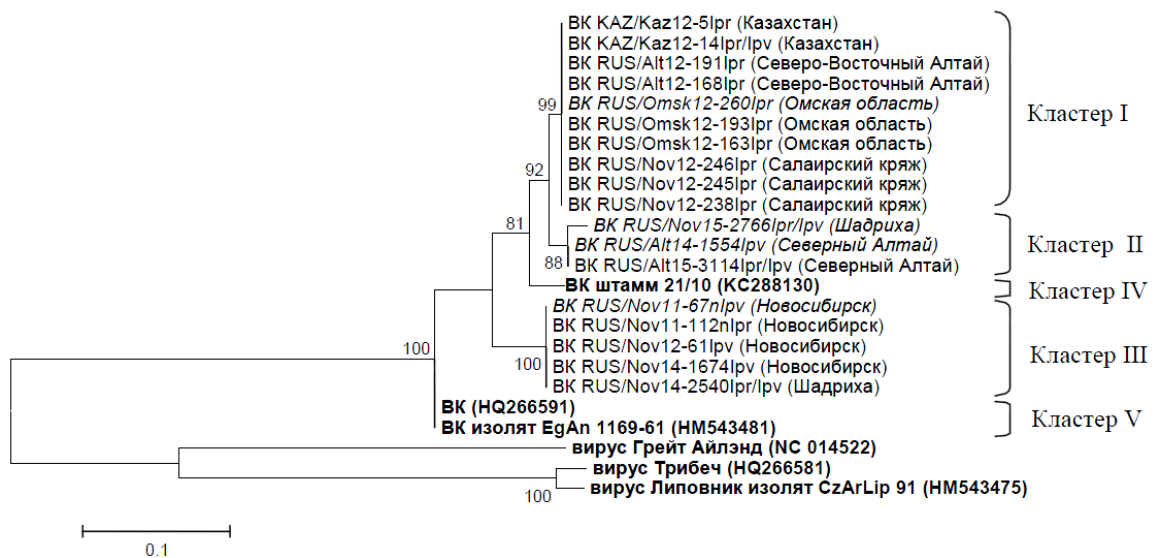


Рисунок 1.4.1. Дендрограмма филогенетического сходства изолятов ВК, найденных в иксодовых клещах с различных территорий Западной Сибири, построенная методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) на основании последовательностей фрагментов сегмента 1 генома ВК (1891–2128 н.о.). Последовательности изолятов/штаммов вируса Кемерово и вирусов внешней группы (вирусы Грейт Айлэнд, Трибеч и Липовник) из базы данных из базы данных GenBank выделены жирным. Изоляты ВК, для которых также были определены последовательности фрагментов сегмента 2 геномов, выделены курсивом. В скобках показаны номера доступа в базе данных GenBank или места выделения изолятов ВК.

Цифры в узлах обозначают индексы поддержки.

О структуре паразитарной системы природных очагов лихорадки Кемерово

Основные данные о связи вируса Кемерово с теми или иными группами членистоногих и позвоночных были получены в 60-х гг. XX века. По данным Е. Либиковой, 60-е гг. XX в. (цит. по Михайловой, 1974) в Кемеровской области антитела (применяли реакцию биологической нейтрализации на культурах клеток) были обнаружены у мелких млекопитающих в 26,5 %, у птиц разных видов – в 37 %, у крупного рогатого скота – в 44,4 %, у лошадей в 100 % (обследовано 16 голов). Как правило, титры антител были низкими – 1:4 – 1:8, однако титрование группы сывороток, полученных от крупного рогатого скота, позволило выявить антитела в титрах от 1:4 до 1:64, иногда и выше. Частота обнаружения антител у крупного рогатого скота увеличивалась с увеличением продолжительности пребывания животного в очаге. При обследовании крупного рогатого скота в другом районе Кемеровской области (по данным Г.П. Флеер и Л.К. Березиной, 1965) вируснейтрализующие антитела найдены в 81 % образцов.

Экспериментальные исследования вирусов группы Кемерово (Трибеч и Ченуда) на культурах клеток комаров и клещей уже на первых этапах исследований позволили отнести данную группу возбудителей к арбовирусам, а также рассматривать членистоногих как естественных переносчиков инфекции.

Данные по инфицированности иксодовых клещей вирусом Кемерово на территориях Кемеровской и Новосибирской областей, приводимые за период 1962–1966 гг. (Михайлова, 1974) демонстрируют неоднородность ситуации на двух примыкающих территориях и наличие многолетней цикличности в данный период. Так, в 1962–1963 гг. инфицированность таежных клещей вирусом Кемерово составляла от 0,7 до 1,6 %, в тот же период на прилегающей территории Новосибирской области – 9,5 %. За трехлетний период наблюдений период инфицированности таежных клещей, отловленных около трех населенных пунктов Тогучинского района Новосибирской области, постепенно снижалась от 16,9 (12,3 и 10,8) % в 1964 г. до, соответственно, 3,3 (6,1 и 3,7) % в 1966 г.

Исследования современного периода показывают, что вирус Кемерово имеет, по-видимому, чрезвычайно широкое распространение на территории РФ – в иксодовых клещах возбудитель обнаружен в 11 регионах РФ (Дедков и др., 2013; Dedkov et al., 2014; Tkachev et al., 2017). Вирус выявляется не только в клещах р. *Ixodes* (*I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*), но и – р. *Dermacentor*. Подтверждается выраженная неоднородность пространственного распределения возбудителя. Вирус обнаружен в иксодовых клещах в северной лесостепи, подтаежной зоне и южной тайге региона (Омская область). При этом уровень инфицированности самцов и самок таежного (10,7 и 11,7 % соотв.) и лугового (около 9,5 %) клещей в северной лесостепи (2007 г.) сходен, инфицированность таежных клещей в подтайге в тот же период составил 7,4 %. В одном из районов южной тайги (Омская обл., 2012 г.) уровень инфицированности *I. persulcatus* в различных типах местообитаний варьировал от 0 до 4,2 % (или 0–0,7–1,4 экз. инфицированных клещей на км маршрута при численности вида от 20 до 40 экз./км), что в целом соответствует уровню инфицированности имаго этого вида (4,6 %), полученных в результате метаморфоза спонтанно инфицированных нимф, питавшихся на естественных прокормителях в оптимальных биотопах (смешанные леса). Высокий уровень инфицированности таежных клещей выявлен на Салаирском Кряже (в пределах территории Новосибирской области) – до 10,0 %, тогда как на других территориях Новосибирской области – 1,5 %, Алтайского Края – 2,2 %, Республики Алтай – 2,6 % (Ткачев и др., 2013; Dedkov et al., 2014; Tkachev et al., 2017).

Экспериментальные исследования инфекционного процесса

Общим признаком вирусов группы Кемерово являлась цитопатогенное действие этих вирусов, обнаруживаемое в клетках культур ККЭ, ВНК-Н1, РСХ-68, VERO, СПЭВ-44. Изученные в этих культурах вирусы не отличались друг от друга по характеру и интенсивности вызываемых ими цитопатологических

изменений при первичном заражении (без адаптации в длительных пассажах). Между вирусами Кемерово и вирусом клещевого энцефалита отмечен феномен интерференции (Львова с сотр., 1964; Карпович, 1965): после предварительного заражения клеток этой культуры вирусом клещевого энцефалита (ВКЭ) чувствительность клеток куриного эмбриона к цитопатогенному действию вируса Кемерово снижалась, как правило титр вируса Кемерово снижался не менее, чем на 3 знака логарифма. По данным Л.Г.Карпович (1965) наиболее отчетливо выявлялось интерферирующее действие ВКЭ на бляшкообразующую способность вируса Кемерово.

Все вирусы группы Кемерово вызывали при внутримозговом заражении новорожденных мышей (НБМ) 1–3-дневного возраста клиническую картину энцефалита и смерть. Наиболее выраженное заболевание со 100 % летальностью наблюдалось у НБМ до 7–8-дневного возраста, сопровождающееся характерным острым некротизирующим энцефалитом без заметных воспалительных изменений (Libikova et al., 1964, 1965).

Вирусы группы Кемерово, по-видимому, не отличаются по нейровирулентности для НБМ: титры вирусов в различных пассажах колебались от 6,5 до 8,5 lg ЛД_{50/мл}, инкубационный период варьировал от 2 до 7 дней, чаще – 2–3 дня. При заражении мышей предельными разведениями вируса (10^6 – $10^{6.5}$ ТЦД₅₀) инкубационный период удлинялся до 5–7 дней. После проведения 3–4 пассажей титр вируса в мозгу новорожденных белых мышей достигал максимального уровня и оставался на этом уровне в дальнейших пассажах. Развитие клинических симптомов у этих животных выражалось в том, что они отставали в росте, наблюдалось нарушение координации, взъерошенность шерсти, а в конце заболевания, как правило, развивались парезы и параличи задних конечностей. При подкожном и внутрибрюшинном заражении неадаптированные штаммы вирусов не вызывали гибели НБМ. После многочисленных (от 17 до 25) внутримозговых пассажей на мышях-сосунках вирулентность вирусов группы Кемерово значительно увеличилась, и эти агенты приобрели способность вызывать гибель новорожденных животных при интраперитонеаль-

ном и подкожном заражении, хотя инкубационный период заболевания после периферического заражения удлинялся (до 10–14 дней) по сравнению с внутримозговым заражением. После 13–15 последовательных пассажей через мозг мышей-сосунков возможно адаптировать вирусы группы Кемерово к мышам 15-дневного возраста (5–6 граммов). Инкубационный период заболевания в этой группе животных увеличивался до 4–10 дней. У заболевших мышей этого возраста и веса развивался клинически выраженный энцефалит, мышцы погибали с явлениями параличей задних конечностей. Характерной особенностью энцефалита у взрослых мышей являлась дегенерация вплоть до некроза покрова желудочков и межклеточная воспалительная инфильтрация этих участков, а также вокруг сосудов в белом и сером веществе, главным образом, вокруг желудочков. Поражение нервных клеток не выявлено. По данным Е. Либиковой с соавторами (1965), энцефалит у взрослых хомячков, зараженных внутримозговым путем, характеризовался теми же особенностями, что у взрослых мышей.

Клиническая картина заболевания у новорожденных белых крыс и новорожденных сирийских хомячков не отличалась от клинической картины заболевания у новорожденных белых мышей. Мыши 17-дневного возраста, взрослые белые крысы, сирийские хомячки и морские свинки при заражении не заболевали. У взрослых мышей и хомячков эти вирусы могут быть пассированы при внутримозговом заражении без клинических признаков болезни. В ряде экспериментов удавалось получить иммунный ответ на комбинированное введение вируса.

Вирусы группы Кемерово вызывали лихорадочное заболевание у обезьян макак резус при интрацеребральном заражении, но оказались практически апатогенными для кроликов, цыплят, жеребят, телят. Е.Либикова с сотрудниками (1969, 1970) при интраталамическом заражении обезьян макак резус выявила признаки лимфоцитарного менингита и единичные муфты вокруг сосудов в сером веществе ствола мозга. Необходимо отметить, что морфологические изменения обнаруживались с 10-го дня после заражения. По данным И.А. Робинзон и А.П.Савинова (1964), у обезьян вирус Кемерово вызывал

распространенные воспалительные изменения в ЦНС типа менингоэнцефаломиеелита при отсутствии каких-либо выраженных изменений во внутренних органах.

Резюмируя все вышеизложенное, можно подчеркнуть, что все вирусы этой группы при заражении новорожденных мышей вызывают у них острый некротизирующий энцефалит, часто с дегенерацией клеток ганглиев без поражения других органов и тканей, за исключением незначительных некрозов эпидермиса и соединительной ткани кожи. При заражении обезьян вирусами группы Кемерово наблюдалась картина сравнительно доброкачественного заболевания без выраженных очагов деструкции в мозгу.

Сущность патогистологических изменений заключалась в дисциркуляторных расстройствах и повреждении стенок сосудов (гиперемия, отек, набухание и пролиферация эндо- и перителлия, образование инфильтратов вокруг сосудов, состоящих из сегментоядерных лейкоцитов и лимфогистиоцитарных элементов). Регулярно обнаруживались также мелкие очаги некроза в коре полушарий, сопровождающиеся очаговой пролиферацией глии. Характерен значительный диффузный глиоз. Вирусный антиген накапливался, главным образом, в цитоплазме нейронов и клеток нейроглии.

Таким образом, имеющиеся на сегодня данные говорят о вероятности чрезвычайно широкого распространения вируса Кемерово на территории РФ и сопредельных государств. Сочетанность природных очагов данной инфекции с КЭ делает проблематичной оценку её роли в патологии населения, которая, по всей видимости, гораздо шире, чем представлялось в начале исследований.

Раздел 2. Инфекции, передаваемые кровососущими комарами

Глава 2.1. Общая характеристика фауны кровососущих комаров Западной Сибири

Почти повсюду на территории Западной Сибири комары (*Insecta: Diptera*; сем. *Culicidae*) вместе с другими кровососущими двукрылыми (мошками – сем. *Simulidae*; мокрецами – сем. *Ceratopogonidae* и слепнями – сем. *Tabanidae*) являются важнейшим компонентом гнуса, причиняя немалый вред человеку и животным, в т.ч. – в качестве переносчиков возбудителей многих инфекционных болезней человека и животных (вирусных лихорадок, туляремии, сибирской язвы и др.). Насекомые-переносчики возбудителей инфекционных заболеваний, в т.ч. комары, из-за их короткой индивидуальной жизни не могут длительное время сохранять в себе патогенов и компенсируют этот недостаток достаточно высокой эффективностью передачи (Балашов, 2009). Инфекции, связанные в своем распространении с комарами, москитами и мошками, которые отличаются высокой подвижностью, часто протекают в форме эпизоотий и эпидемий разного пространственного и временного масштаба (лихорадка Денге, желтая лихорадка, комариные энцефалиты, малярия, филяриозы). Наибольшее эпидемиологическое значение среди двукрылых насекомых имеют именно комары.

Передача возбудителей инфекций комарами была доказана еще на рубеже XIX–XX веков П. Масоном для филяриоза, К. Финлеем и В. Ридом – для возбудителя желтой лихорадки, А. Лавераном, Р. Россом и Б. Грасси – для малярии. Установлена также роль комаров в переносе вирусов – возбудителей лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, лихорадок Денге и Синдбис, ряда вирусных энцефаломиелитов и многих других. Главными природными резервуарами и амплификаторами возбудителей служат позвоночные животные, в них же возбудители сохраняются в межэпизоотические периоды.

Продолжение таблицы 2.1.1.

Вид	Западно-Сибирская равнина									Алтай	
	Тн	ЛТн	СевТ	СрТ	ЮТ	ПТ	Лст	Ст	ПрЛст	ГЛп	ГСт
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>O. cyprius</i>	–	+	–	+	+	++	+	+	+	+	+
<i>O. detritus</i>	–	–	–	+	+	+	+	–	–	+	–
<i>O. diantaeus</i>	–	–	+	+	+++	+	++	–	+	+	+++
<i>O. euedes</i>	+?	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+
<i>O. excrucians</i>	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+	++	+++	+
<i>O. flavescens</i>	–	–	+	+	+	+	+++	++	+	+	+
<i>O. hexodontus</i>	+++	+++	+	++	+	+	+	–	+	+	+
<i>O. impiger</i>	+	+++	+	+	+?	+	–	–	–	+	–
<i>O. intrudens</i>	+	+	+	+	+++	+	+++	+	+	+	+++
<i>O. leucomelas</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
<i>O. mercurator</i>	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–
<i>O. nigrinus</i>	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	–
<i>O. nigripes</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–
<i>O. pionips</i>	+	+	+	+	+	++	+	–	+	+++	+
<i>O. pullatus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>O. punctor</i>	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++
<i>O. riparius</i>	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+
<i>O. rempeli</i>	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
<i>O. sticticus</i>	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–
<i>O. stramineus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–
<i>Stegomyia galloisi</i>	–	–	–	+?	+?	–	+?	–	–	+	–
<i>St. sibiricus</i>	–	–	–	+	+	+	–	–	+?	–	–
<i>Culex modestus</i>	–	–	–	+	+	+	++	+	+	–	–
<i>Cx. pipiens</i>	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+++	–
<i>Cx. torrentium</i>	–	–	+	+	+?	+	–	–	–	–	–
<i>Cx. territans</i>	–	–	+	+	+	+	+?	+	–	+	–
<i>Cx. vagans</i>	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–
<i>Culiseta morsitans</i>	–	–	+	+	+	+	+	–	+	+	–
<i>Cs. longiareolata</i>	–	–	–	+?	+	+	+	–	–	+	–
<i>Cs. ochroptera</i>	–	–	–	?	+	+	+	–	–	–	–
<i>Cs. alaskaensis</i>	–	+	+	+	+	+	+	+	+	++	–
<i>Cs. bergrothi</i>	–	–	+	+	+	+	+?	–	+	+	–
<i>Coquillettidia</i>	–	–	+	+	+	+	++	++	+	+	–
Всего видов	13-15	19-20	29	40-43	41-44	42-43	37-40	28	31-32	34	18

Примечания: * – по: Кухарчук, 1981; Мирзаева и др., 2007; Редькина и др., 2007; Некрасова и др., 2008; Павлова и др., 2011; Белевич, Юрченко, 2011; ландшафтные зоны/подзоны: Тн – тундра, ЛТн – лесотундра, СевТ – северная тайга, СрТ – средняя тайга, ЮТ – южная тайга, ПТ – подтайга, ЛСт – лесостепь, Ст – степь, ПрЛСт – предгорная лесостепь (Правобережное Приобье, Кузнецкий Алатау), ГЛп – горно-лесной пояс (Алтай), ГСт – горная степь (Алтай); + – вид редкий, или малочисленный; ++ – обычный; +++ – массовый (доминант, содоминант); +? – обитание вида требует уточнения.

Таблица 2.1.2. Видовой состав и распространение кровососущих комаров (*Insecta: Diptera; Culicidae*) на административных территориях Западной Сибири (по данным литературы¹)

Род	Вид	Регистрация видов комаров в ландшафтных зонах/подзонах ² в пределах различных административных территорий Западной Сибири							
		ЯНАО	ХМАО-Югра	Тюменская область	Омская область	Новосибирская область	Томская область	Кемеровская область	Алтайский край
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Anopheles</i>	<i>An. messeae</i> Falleroni, 1926	ЛТн (?), СевТ	СевТ, СрТ	Т, ЛСт	ЮТ, ЛСт, Ст	ЮТ, ЮЛСт, сосн. боры	СрТ, ЮТ, ПТ	ГЛп	ПрЛСт, ГЛп сосн. боры
	<i>An. beklemishevi</i> ** Stegnii et Kabanova, 1976	-	СевТ, СрТ	ЛСт (окр. г. Тюмень)	ЮЛСт, Ст	ПрЛСт	СрТ, ЮТ, ПТ	?	?
<i>Aedes</i>	<i>Ae. cinereus</i> ** Meigen, 1818	ЮТн, ЛТн, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ	ГЛп, ПрЛСт?	ГЛп, ПрЛСт
	<i>Ae. rossicus</i> ** Dolbeskin, Gorickaja & Mitrofanova, 1930	-	-	ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛСт	ЛСт	ЛЗ	-	-

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Aedes</i>	<i>Ae. vexans vexans</i> (Meigen, 1830)	СевТ	СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЮТ, ЛСт, Ст	ЮТ, ЛСт, Ст	ЛЗ	ГЛп	ГЛп
	<i>Ae. vexans nipponii</i> (Theobald, 1907)	-	-	-	-	ЛСт (окр. Новоси- бирска)	ЛЗ	?	ГЛп, ПрЛСт
<i>Ochlerotatus</i> (= <i>Aedes</i>)	<i>O. communis</i> (de Geer, 1776)	Тн, ЛТн, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛЗ, ЛСт,	ЛЗ, ЛСт,	ЛЗ	ПрЛСт	ПрЛСт, ГЛп
	<i>O. dorsalis</i> (Meigen, 1830)	СевТ	СрТ	ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛСт	ЛСт, Ст	ЛЗ	ЛЗ	ПрЛСт, ГЛп
	<i>O. albescence</i> (Edwards, 1921)	?	?	ЛСт	ЮЛСт ?	ЮЛСт, Ст	-	?	?
	<i>O. subdiversus</i> (Martini, 1926)	?	?	ЛСт	ЛСт, Ст,	Ст	ЛЗ	юЛЗ	?
	<i>O. annulipes</i> (Meigen, 1830)	-	СрТ	СрТ	-	-	?	-	-
	<i>O. behningi</i> (Martini, 1926)	СевТ	-	ЮТ, ПТ, ЛСт	ЮЛСт ?	ЛСт, Ст	ЛЗ	-	ПрЛСт, ГЛп
	<i>O. cantans</i> (Meigen, 1818)	ЛТн, СевТ	СевТ, ЮТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛСт	ЮТ, ЛСт, Ст, ПрЛСт	ЛЗ	ГЛп	ПрЛСт, ГЛп

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Ochlerotatus</i> (= <i>Aedes</i>)	<i>O. caspius</i> (Pall., 1771)	-	СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСТ	ЮЛСТ, СТ,	ЛСТ, СТ	ЛЗ	?	?
	<i>O. cataphylla</i> (Dyar, 1916)	ТН, ЛТН, СевТ	СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСТ	ЛЗ, ЛСТ	ЛЗ, ЛСТ?, СТ	ЛЗ	ГЛп	ГЛп
	<i>O. cyprius</i> (Ludlow, 1920)	-	СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСТ	ЮТ, ПТ, ЛСТ, СТ	ЮТ, ПТ, ЛСТ, СТ?, ПрЛСТ	ЛЗ	?	ПрЛСТ
	<i>O. detritus</i> (Holiday, 1833)	-	СрТ	Т, ПТ	ЮТ, ЛСТ	ЮТ, ЛСТ?	ЛЗ	ГЛп	ГЛп
	<i>O. diantaeus</i> (Howard, Dyar & Knab, 1913)	-	СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСТ	ЛЗ, ЛС	ЛЗ, ЮЛСТ?	ЛЗ	ПрЛС	ПрЛС
	<i>O. euedes</i> (= <i>Aedes beklemishevi</i>) (Howard, Dyar & Knab, 1913)	ЮТН, ЛТН, СевТ	СрТ	ЮТ, ПТ, ЛСТ	ЛСТ	СТ	ЛЗ	ГЛп	?
	<i>O. excrucians</i> (Walker, 1856)	ЮТН, ЛТН, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСТ	Т, ПТ?, ЛСТ	Т, ЛСТ, СТ	ЛЗ	ГЛп	?
	<i>O. flavescens</i> (Muller, 1764)	СевТ	Т	ЮТ, ПТ, ЛСТ	ПТ?, ЛСТ, СТ	ПТ?, ЛСТ, СТ	ЛЗ	?	ПрЛСТ

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Ochlerotatus</i> (= <i>Aedes</i>)	<i>O. hexodontus</i> (Dyar, 1916)	Тн, ЛТн, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛЗ, ЛСс	ЛЗ, ЛСт?	ЛЗ	ГЛп, ПрЛСт	ГЛп, ПрЛСт
	<i>O. impiger</i> (Walker, 1848)	Тн, ЛТн, СевТ	Т	ЮТ	ЛЗ?	ЛЗ?	ЛЗ	ГЛп?	ГЛп?
	<i>O. intrudens</i> (Dyar, 1919)	Тн, ЛТн, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ, ЛСт?, С,	ЛЗ	ГЛп, ПрЛСт	ГЛп, ПрЛСт
	<i>O. leucomelas</i> (Meigen, 1804)	юТн, ЛТн, СевТ	СрТ	Т, ПТ, ЛСт	ЮТ, ПТ, ЛСт	ЮТ, ПТ, ЮЛСт?, Ст	ЛЗ	Г-ЛП	Г-ЛП, ПрЛС
	<i>Ocl. mercurator</i> (Dyar, 1920)	-	-	ЮТ, ПТ, ЛСт	?	?	?	-	-
	<i>O. nigrinus</i> (Eckstein, 1918)	СевТ	?	ЮТ	?	?	ЛЗ	?	?
	<i>O. nigripes</i> (Zetterstedt. 1838)	Тн, ЛТн, СевТ	СевТ	-	-	-	ЛЗ	-	-
	<i>O. pionips</i> (Dyar, 1919)	юТн, ЛТн, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛЗ, ЛСт	ЛЗ?	ЛЗ	Г-ЛП, ПрЛС	Г-ЛП, ПрЛС

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Ochlerotatus</i> (= <i>Aedes</i>)	<i>O. pullatus</i> (Coquilett, 1904)	ТН, ЛТН, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт?	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ	Г-ЛП, ПрЛС	Г-ЛП, ПрЛС
	<i>O. punctor</i> (Kirby, 1837)	ТН, ЛТН, СевТ	Т	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	?	ЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ	ГЛп	ГЛп, ПрЛСт
	<i>O. rempeli</i> Vockeroth, 1954	-	-	-	-	ЛСт	-	-	-
	<i>O. riparius</i> (Dyar et Knab, 1907)	ЮТН, ЛТН, СевТ	СевТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	ЛСт, Ст	ЛСт, Ст, ПрЛСт	ЛЗ	ГЛп	ГЛп
	<i>O. sticticus</i> (Meigen, 1838)	-	-	ЮТ, ПТ	?	ЮТ, ЛСт	ЛЗ	-	-
	<i>O. stramineus</i> (Dubitzky, 1970)	-	-	?	ЛС?	СЛСт, Ст	-	-	-
<i>Stegomyia</i> (= <i>Aedes</i>)	<i>St. galloisi</i> (Yamada, 1921)	-	-	?	?	ЛЗ	?	ГЛп, ПрЛСт?	ГЛп
	<i>St. sibiricus</i> Danilov et Filip- pova, 1978	-	-	-	-	окр. г. Но- восибир- ска	г. Томск ***		
<i>Culex</i>	<i>Cx. modestus</i> (Ficalbi, 1890)	-	-	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛСт	юЛЗ, ЛСт, С	юЛЗ, ЛСт, Ст	ЛЗ	ПрЛСт	ПрЛСт

Продолжение таблицы 2.1.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Culex</i>	<i>Cx. pipiens</i> L., 1758	-	СрТ	ЮТ, ПТ, ЛСТ	?	ЛЗ, ЛСТ, СТ	ЛЗ	ПрЛСТ	ГЛп
	<i>Cx. torrentium</i> Martini, 1925	СевТ	СрТ	Т, Пойма	Пойма	Пойма	ЛЗ	?	?
	<i>Cx. territans</i> Walker, 1856	СевТ	СрТ	ЮТ	?	ЮТ?, СЛСТ?, СТ	ЛЗ	?	ГЛп
	<i>Cx. vagans</i> Wiedemann, 1828	-	-	ЮТ	?	ЮТ	ЛЗ	-	-
<i>Culiseta</i>	<i>Cs. longiareolata</i> (Macquart, 1838)	-	-	ЮТ Т, ПТ	ЛСТ	?	ЛЗ	?	ГЛп
	<i>Cs. morsitans</i> (Theobald, 1901)	СевТ	СевТ ?	ЮТ, ПТ, ЛСТ		ЛСТ ?	ЛЗ	?	?
	<i>Cs. ochroptera</i> (Peus, 1935)	-	-	ЮТ	ЛЗ, ЛСТ	ЛЗ, ЛСТ	ЛЗ	?	?
	<i>Cs. alaskaensis</i> (Ludlow, 1906)	ЛТн, СевТ	СевТ, СрТ	ЮТ, ПТ, ЛС	Т, ПТ?	Т, ПТ?	ЛЗ	ГЛп	ГЛп
	<i>Cs. bergrothi</i> (Edwards, 1921)	СевТ	СевТ, СрТ	ЮТ, ПТ	?	Т	ЛЗ	?	ГЛп
<i>Coquillettidia</i> (=Mansonia)	<i>Co. richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	СевТ	СевТ, СрТ	СрТ, ЮТ, ПТ, ЛС	СТ, ЛСТ	СТ, ЛСТ	ЛЗ	?	ПрЛСТ

Примечания: **Полужирным шрифтом** выделены виды комаров, регулярно нападающих на человека. ¹ – по: Кухарчук, 1980; 1981; Горностаева, 2000; 2003; Горностаева, Данилов, 2002; Павлова и др., 2007; 2011; Мирзаева и др., 2007; Редькина и др., 2007; Редькина, Истраткина, 2009; Белевич, Юрченко, 2011); ² **ландшафтные зоны:** Ст – степь, ЛСт – лесостепь (без указания подзон), ЮЛСт – южная лесостепь, СЛСт – северная лесостепь, ПрЛСт – предгорная лесостепь, ПТ – подтайга, Т – тайга (без указания подзоны), ЮТ – южная тайга, СрТ – средняя тайга, СевТ – северная тайга, ЛЗ – лесная зона (без указания подзон), юЛЗ – юг лесной зоны (без указания подзоны), ГЛп – горнолесной пояс, Пойма – водоемы в поймах рек (без указания ландшафтной зоны/подзоны), ЛТн – лесотундра, Тн – тундра, ЮТн – южная тундра; ? – нет данных; ** – виды, уточненные на основании цитогенетического анализа (Горностаева, 2000 а, б); *** – по данным Редькиной и др., 2007, в г. Томске отмечается не *Stegomyia galloisi*, а очень похожий на него *St. sibiricus* (Danilov et Filippova, 1978).

Экология кровососущих комаров в Западной Сибири.

По типу развития комары относятся к насекомым с полным превращением – цикл их развития включает фазы яйца, личинки (I–IV возраста), куколки и имаго. Для них характерна гетеротропность (разные места обитания преимагинальных фаз и имаго): преимагинальные фазы (личинка, куколка) являются гидробионтами – обитают в водной или влажной среде (водоемы с проточной и стоячей водой, временные весенние заболоченности, лужи и колеи дорог; у синантропных видов – в искусственных емкостях с водой вблизи жилья человека или в затопленных подвалах домов); имаго (окрыленные насекомые) живут в наземно-воздушной среде.

Способы добывания пищи личинками комаров различных родов довольно разнообразны. По способу питания они делятся на фильтраторов, отскребывателей и хищников. Среди фильтраторов различают виды, питающиеся с поверхностной пленки (личинки комаров рода *Anopheles*), и виды, питающиеся взвешенными частицами из более глубоких слоев воды (планктонный тип питания; характерен для личинок комаров родов *Culex*, *Coquillettidia*, а также некоторых представителей родов *Aedes* и *Culiseta*). Питание отскребыванием (путем соскабливания

микроорганизмов с поверхности различных подводных предметов) характерно для личинок комаров родов *Aedes*, *Ochlerotatus* и некоторых представителей р. *Culiseta*.

Имаго комаров после вылупления из находящихся в воде куколок проводят несколько часов или суток на растительности вблизи водоемов. Кровососание свойственно только самкам, вторым источником пищи для самок и единственным для самцов служат углеводы растительного происхождения – нектар, соки растений и др. Т.о., для самок характерно смешанное углеводно-белковое питание, для самцов – только углеводное. Однако способность к кровососанию самки получают только после спаривания; сразу после вышлюда они питаются только нектаром и соками растений. Для кровососущих комаров характерна *гонотрофическая гармония*, при которой кровососание необходимо для созревания и откладки яиц. В жизненной схеме одной самки, как правило, несколько последовательных гонотрофических циклов. Однако в составе многих популяций отдельных видов характерно присутствие автогенных самок, откладывающих яйца без кровососания. Наиболее выражено данное явление в популяциях комаров северной Субарктики как резервный механизм выживания в условиях глубоких депрессий численности прокормителей.

Среди комаров различают полициклические виды, дающие два или более поколений в году, и моноциклические виды, дающие всего одно поколение. Большинство видов нападают на человека и домашних животных вне помещений (так называемые экзогенные, или экзофильные виды) – их самки нападают на добычу и концентрируются в природных станциях вблизи мест вышлюда, но могут залетать и в помещения. Некоторые виды нападают преимущественно внутри помещений (эндогенные, или эндофильные виды).

Разнообразны экологические и биологические особенности комаров Западной Сибири: среди них встречаются виды, зимующие в фазе яйца (представители родов *Aedes* и *Ochlerotatus*), личинки (комары родов *Coquillettidia* и *Culiseta*) и имаго (представители родов *Anopheles*, *Culex*, большинство *Culiseta*).

Род *Aedes*. Самки откладывают яйца по одному в почву, выбирая для этого края или дно пересыхающих водоемов,

периодически заполняемых водой. Развитие зародышей в яйце происходит только во влажной почве или под водой, до формирования личинки яйца очень неустойчивы к высыханию. Яйца со сформировавшейся личинкой могут сохранять жизнеспособность в течение многих лет, переживая низкие температуры, высыхание, длительное пребывание под водой. Личинки вылупляются из покоящихся яиц только, когда они окажутся затопленными водой подходящей температуры. Вылупление личинок из яиц одной кладки может растягиваться на несколько суток. При пересыхании водоемов яйца сохраняются, и при следующем затоплении их водой дают начало новой порции личинок. Наличие запасных покоящихся яиц является приспособлением к жизни в пересыхающих водоемах, повышающим выживаемость потомства у комаров р. *Aedes*.

Зимуют комары рода *Aedes* в фазе яйца. У некоторых видов (*Ae. cinereus*) при любых условиях, пригодных для вылупления, личинки появляются из части яиц, отложенных в текущем году. При повторном затоплении личиночных биотопов в течение года происходит повторный массовый выплод (облигатно-полициклические виды). У других видов (*Ae. vexans*) личинки из кладки текущего года вылупляются только при дополнительных условиях (кроме затопления личиночных водоемов необходимо длительное воздействие высоких температур – это факультативно-полициклические виды). Личинки комаров р. *Aedes* – типичные отскребыватели, обитают обычно на дне водоемов. Из представителей этого рода эпидемическое значение в качестве переносчиков возбудителей арбовирусных инфекций установлено только для *Aedes cinereus*.

Aedes cinereus Meigen, 1818. Населяет все ландшафтные зоны Западной Сибири, предпочитая интразональные биотопы. Наиболее многочислен в лесостепи. Раннелетний, умеренно-теплолюбивый и солевыносливый вид. Личинки развиваются на заболоченных участках, поросших осокой, расположенных по бережьям озер, среди леса или на опушках, с дернистым дном и прозрачной желтоватой водой, в колеях лесных дорог.

Период развития личинок в средней тайге длится с середины июня до третьей декады июля, в лесостепи – со второй

декады мая до третьей декады августа. В тайге комары появляются в конце июня и летают до середины августа, в лесостепи и степи – с конца мая до сентября. Период выплода сильно растянут. Крайне влаголюбивы, держатся вблизи от водоемов, преимущественные обитатели травянистого яруса. В лесостепной зоне Омской области наибольшее количество комаров этого вида отмечается в тростниковых займищах (доля в отловах 42–82 %); в колках их значительно меньше и держатся они, в основном, в сырых понижениях или на прилегающих к колкам болотцах. Активны в утренние и вечерние часы, максимальная активность приходится на 21–23 часа (в условиях высокой влажности воздуха активны и в дневное время). Особенно назойливы перед дождем и во время мелкого дождя. Активные кровососы; у *Ae. cinereus* выражено предпочтение к человеку и мелким млекопитающим, реже нападает на птиц (Богданов, Волынец, 1971).

Ae. cinereus – переносчик вирусов серогруппы калифорнийского энцефалита, зарегистрирована инфицированность комаров этого вида вирусом ОГЛ (Волынец, 1970; Волынец и др., 1972), а также показана его восприимчивость к вирусу Западного Нила (Кононова, 2010).

Род *Ochlerotatus*. Общая экология комаров этого рода во многом схожа с комарами р. *Aedes*. Основные места выплода – временные водоемы с землистым дном (небольшие временные водоемы, лужи, заболоченности, канавы, ямы и т.п.; дно их бывает покрыто затопленной травой и опавшей листвой). У лесных видов (*O. communis*) радиус разлета от мест выплода не превышает нескольких сотен метров, для некоторых видов, населяющих открытые станции, отмечаются пассивные миграции с ветром на расстояния в несколько десятков километров (*O. dorsalis* и *O. caspius* рассеиваются в поисках добычи до 35 км по долинам рек). Зимуют комары этого рода (как и комары *Aedes*) в фазе яйца. Вылупление личинок из яиц одной кладки происходит в разные периоды: например, для комаров группы «*communis*» характерен кратковременный период вылупления в каждом году; у других видов (*O. excrucians*) период вылупления растянут. Личинки в водоемах обитают обычно на дне, где питаются, обскребывая пленку из микроорганизмов, покрывающую подводные предметы.

Из представителей этого рода эпидемическое значение в качестве переносчиков возбудителей арбовирусных инфекций установлено для *Ochlerotatus caspius*, *O. dorsalis*, *O. excrucians*, *O. subdiversus*, *O. euedes* (прежнее название вида – *Aedes beklemishevi*), *O. flavescens*, комаров группы «communis» (*O. communis* и *O. cataphylla*):

1. *Ochlerotatus caspius* (Pall., 1771). Западно-центральный палеарктический вид. Приурочен в основном к южным районам (южная лесостепь и степь), реже встречается в лесной зоне. Личинки обитают во временных открытых минерализованных водоемах, возникающих в результате таяния снега. Лёт комаров начинается в мае. В южной лесостепи и степи Омской области имаго встречаются со второй половины мая до конца сентября. Дневки встречаются на открытых местах (луга, проселки, лужайки) Один из двух самых теплолюбивых, тепловыносливых и сухоустойчивых видов фауны России – амплитуда температур, при которых может заканчиваться личиночное развитие *O. caspius* 15–34⁰С (в среднем 19⁰С). Один из самых докучливых видов комаров. Нападения на людей и животных усиливаются перед заходом солнца и активно продолжаются после захода; в ночные часы активность снижается и вновь возрастает в предутренние часы, перед восходом солнца. В дневные часы нападают только в местах дневок, в т.ч. и при ярком солнечном свете (при t=29–31⁰С). Зарегистрирована инфицированность комаров этого вида вирусами комплекса КЭ.

2. *Ochlerotatus dorsalis* (Meigen, 1830). Широко распространенный голарктический вид. В Сибири многочислен в лесостепи (как в равнинной, так и в предгорной); встречается также в лесной и степной зонах. Это один из самых массовых видов кровососущих комаров лесостепной зоны: местами на его долю приходится 30–50 % от всех нападающих на человека *Culicidae*. Солевыносливый, умеренно-теплолюбивый вид. Личинки развиваются в небольших временных открытых водоемах с минерализованной водой. Лёт комаров в лесостепи происходит с конца мая до середины сентября, в степной зоне – с середины мая до середины сентября. За год дает обычно две генерации – первый пик численности приходится на конец мая –

начало июня; второй – на август-начало сентября. Дневки устраивает в траве, кустарниках, в открытых стациях. Активный кровосос. Зарегистрирована инфицированность *O. dorsalis* вирусами комплекса КЭ (Калмин и др., 1991, Дрокин и др., 1994).

3. *Ochlerotatus excrucians* (Walker, 1856). Широко распространенный голарктический бореально-лесной вид. В Сибири встречается во всех ландшафтных зонах; многочислен в лесотундре, лесной и лесостепной зонах Западной Сибири. В Омской, Тюменской и Новосибирской областях наибольшей численности достигает в северной лесостепи и лесной зоне (осиново-березовые леса и южная тайга). Тяготеет к интразональным биотопам. Личинки развиваются во временных открытых водоемах с илистым дном и растительностью. Лёт начинается со второй декады мая-начала июня до середины сентября. Умеренно-теплолюбивый вид. Дневными убежищами комаров служат луговая растительность и кустарники. Активный кровосос, нападающий на людей и животных. Наибольшая активность наблюдается после захода солнца и перед восходом (на открытых участках – с 22 час. до часа ночи и с 3 до 6 час.; в пойменных биотопах – преимущественно утренние часы: 5–10 час.); в самые темные часы активность снижается; в дневные часы обычно не нападает (исключение – места дневок). Участвует в циркуляции вирусов СКАЭ.

4. *Ochlerotatus subdiversus* (Martini, 1926). Западно-центральный палеарктический вид. Лесостепной, тяготеющий к экстразональным биотопам. В лесостепной зоне Западной Сибири один из ранневесенних массовых видов комаров рода. Личинки развиваются во временных весенних водоемах, густо заросших травянистой растительностью и расположенных в березово-осиновых колках и их опушках. Период развития личинок приходится на вторую декаду апреля – середину мая. Лёт в лесостепи происходит с первой декады мая по первую декаду июня; массовый лет наблюдается во второй-третьей декаде мая. С начала июня численность резко падает. За сезон дает одно поколение. Активно нападает на людей. Из взрослых комаров выделен вирус ОГЛ, из личинок и взрослых насекомых – вирусы комплекса КЭ (Калмин и др., 1991).

5. *Oclerotatus euedes* (= *Aedes beklemishevi*) (Howard, Dyar & Knab, 1913). Циркумпольярный бореально-лесной вид, населяющий интразональные биотопы. Наиболее характерен для лесостепной зоны Западной Сибири, где является вторым по численности ранневесенним видом после *O. subdiversus*. Выплod комаров происходит во временных весенних водоемах, расположенных в осиново-березовых колках и на их опушках; в степной зоне – на открытых участках. Личинки встречаются с конца апреля до середины мая. Лёт начинается в третьей декаде мая, массовый вылет приходится на конец мая и характеризуется резким снижением в начале июня; в первой декаде июля полностью прекращается. Нападает на людей и животных. При вирусологическом исследовании взрослых насекомых из лесостепи Новосибирской области выделены вирусы КЭ и ОГЛ (Калмин и др., 1991).

6. *Oclerotatus flavescens* (Muller, 1764). Широко распространенный голарктический вид. Обычен для всех ландшафтных зон и подзон Западной Сибири (кроме тундры и лесотундры), особенно многочислен в южной лесостепи и степи, где составляет до 35 % в сборах комаров и до 70 % – среди нападающих на человека самок. Личинки обитают в небольших, чаще временных водоемах, богатых растительностью, расположенных на побережье озер, в сенокосных угодьях, в березово-осиновых колках. Личинки этого вида относятся к галофилам и способны развиваться в солоноватых и соленых водоемах. Лёт комаров в лесостепи отмечается с конца мая до середины сентября, в степи – с третьей декады мая до конца августа.

Максимальная численность приходится на июнь-июль. Наиболее активны в вечерние часы, но могут нападать и при ярком солнечном свете. Дневками им служат кустарники и высокая травянистая растительность. В условиях южной лесостепи Западной Сибири может иметь две генерации. Встречаются и в населенных пунктах. У *O. flavescens* выражено предпочтение к питанию на человеке, значительно меньше – к мелким млекопитающим и птицам (Богданов, Волынец, 1971). В природе связан с циркуляцией вирусов СКАЭ; отмечена инфицированность вида вирусами комплекса КЭ (в частности – вирусом ОГЛ). От комаров *O. flavescens* в Омской области в 1970-е годы были изолированы штаммы ЛЗН (Тарасевич и др., 1978).

7. *Ochlerotatus communis* (de Geer, 1776). Голарктический, циркумбореальный вид, широко распространенный в равнинной и горной тайге. Личинки встречаются в различных водоемах (в основном – временных, образовавшихся при таянии снега) с дном, покрытым опавшей листвой и другими растительными остатками – лужах, заболоченностях, колеях, в лесных канавах, реже встречается в сфагновых болотах. Вода в этих водоемах цвета кофейной гущи, растительность практически отсутствует (на долю личинок *O. communis* в таких водоемах приходится более 90 %). Из комаров этой группы – наиболее ранневесенний вид. Лёт наблюдается с середины мая до конца августа. Дневками служат луговая растительность и кустарники. Нападает на людей и животных преимущественно в лесу и зарослях кустарников. Из комаров этого вида изолировали вирусы СКАЭ.

8. *Ochlerotatus cataphylla* (Dyar, 1916). Голарктический циркумбореальный, полизональный вид. Характерен для лесного фаунистического комплекса. Преимущественно весенний и раннелетний вид. Распространен повсеместно, местами многочислен. Личинки развиваются в водоемах различного типа, образующихся в результате весеннего разлива рек; имаго обитают в лесу и на опушках леса. Активный кровосос. Участвует в циркуляции вирусов СКАЭ.

Род *Culex*. Экология комаров этого рода резко отличается от представителей pp. *Aedes* и *Ochlerotatus*. Места выплода – постоянные и длительно существующие временные водоемы со стоячей или слабопроточной водой, канавы, бочки, карьеры, оросители и др. Вылупление личинок из яиц одной кладки происходит почти одновременно, в разгар лета – через 1–2 дня; покоящихся яиц не бывает. Личинки *Culex* живут у поверхности воды, прикрепляясь к поверхностной пленке, и свешиваясь вниз под углом к поверхности. Питаются планктоном и детритом, находящимся в слое воды под поверхностной пленкой (чистые фильтраторы). Оптимум развития личинок – не ниже 20–25⁰С, при низких температурах развитие идет чрезвычайно медленно. При температуре воды 23–28⁰С продолжительность развития преимагинальных стадий составляет 13–15 сут. В течение года

могут давать две и более генераций. Зимуют оплодотворенные, диапаузирующие самки (в природных стациях или в помещениях). Кроме природных стаций ряд видов обитает в населенных пунктах (*Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *Cx. torrentium*).

Являются переносчиками возбудителей арбовирусных инфекций – вирусов ЗН, Синдбис, японского энцефалита. В Западной Сибири эпидемическое значение имеют комары вида *Culex pipiens*.

Culex pipiens L., 1758 (в иностранной литературе его называют северным домовым комаром; в отечественной – городским комаром; Виноградова, 2003; 2004). Транспалеарктический вид; автогенный *Cx. pipiens* имеет полизональное распространение, неавтогенный – экстарзональное. Для Западной Сибири довольно обычен, встречается в лесостепной и степной зонах, реже – в лесной. Комары этого вида в фауне России представлены двумя экологическими формами или экотипами – «*pipiens*» и «*molestus*», которые отличаются друг от друга по трем основным биологическим признакам (Виноградова, 2003; 2004):

1. для комаров экотипа «*molestus*» характерны автогенность (способность откладывать первую порцию яиц без кровососания, за счет питательных резервов, накопленных на личиночной стадии); стеногамия (спаривание без роения, в замкнутых биотопах) и отсутствие репродуктивной диапаузы, что связано с постоянным обитанием в помещениях;

2. для комаров экотипа «*pipiens*» не характерна автогенность, спаривание происходит во время роения (эвригамия), есть репродуктивная диапауза, позволяющая комарам переживать неблагоприятный осенне-зимний сезон; обитают как в природных биотопах, так и в городской среде.

Особенно важен для идентификации этих форм признак автогении, и понятия «автогенная» и «неавтогенная» формы (или популяции) часто употребляются в качестве синонимов «*molestus*» и «*pipiens*». Кроме того, было доказано, что существуя бок о бок, они занимают разные экологические ниши: неавтогенные *Cx. pipiens* в населенных пунктах и их окрестностях предпочитают размножаться в разнообразных открытых наземных водоемах, а автогенные *Cx. pipiens* освоили специфические

подземные биотопы (подтопленные подвалы домов, туннели, подземные коллекторы и т.п.).

Самки *Cx. pipiens* экотипа «*molestus*» активны в течение всего года – зимуют в подвалах, овощехранилищах и других неотапливаемых помещениях, где температура зимой держится около 10⁰С; отсюда они вылетают в жилые помещения, где их можно встретить с сентября по апрель. Размножаться может только в условиях более или менее стабильных положительных температур, особенно интенсивно – во время отопительного сезона, когда температура воды в городских подвалах поднимается до оптимального для развития личинок уровня (16–22⁰С и выше). Жизненный цикл *Cx. pipiens* в подвальных биотопах максимально упрощен и сокращен. В отапливаемых подвальных помещениях комары могут развиваться круглогодично. Численность популяции поддерживается бесконечно долго исключительно за счет автогенных яйцекладок при условии оптимальной температуры и загрязнения воды органикой. Едва родившись, самки спариваются, а после откладки яиц стремятся вылететь, чтобы насосаться крови для откладки следующей порции яиц. Численность личинок и куколок в подвальных водоемах может достигать 20 тыс. экз. и более на 1 кв. м. Вечером и ночью комары вылетают на лестничные клетки, залетают в квартиры. Зимой взрослые самки могут попадать в квартиры через вентиляционные отверстия. Наличие *Cx. pipiens* в подвалах и на чердаках жилых домов – индикатор плохого состояния канализационных коммуникаций.

Неавтогенные *Cx. pipiens* тоже приспособились к жизни в городской среде – личинки развиваются в сточных канавах, на полях фильтрации, в бочках с чистой и загрязненной водой, цементированных противопожарных колодцах, иногда массовый выплод этих комаров идет из биологических прудов-отстойников, но могут жить и вне города (личинки при этом развиваются в природных биотопах).

Cx. pipiens являются переносчиками многих возбудителей заболеваний человека и животных, в т.ч. арбовирусных инфекций (Виноградова, 2003; Редькина, 2008). В Западной Сибири комары этого вида зарегистрированы как переносчики вирусов комплекса КЭ и СКАЭ.

Род *Coquillettidia*. Ранее был известен как род *Mansonia*. В фауне Западной Сибири представлен одним видом – *Coquillettidia richiardii*, черты экологии которого типичны для рода. Этот же вид имеет эпидемическое значение.

Coquillettidia richiardii (Ficalbi, 1889). Западно-центральный палеарктический вид. В Западной Сибири встречаются, начиная с северной тайги (см. табл. 2), в большей степени характерен для лесостепи. Высокой численности обычно не достигает, но в северной лесостепи в отдельные годы доля комаров этого вида в общих отловах может составлять около 30 %. Развитие личинок *Co. richiardii* происходит главным образом в постоянных водоемах, заросших высшей водной растительностью. Личинки ведут придонный образ жизни, малоподвижны, прикрепляются горизонтально к стеблям и корням растений (рогоз, камыш, водокрас, реже – на ряске), используют для дыхания атмосферный воздух из воздухоносных каналов водных растений, прокалывая покровы растений сифоном. В лесостепной зоне лет начинается с середины мая до конца августа (массовый лет приходится на период с конца июня до начала августа). Держатся чаще в колках, реже в прибрежных озерных займищах, залетают в населенные пункты. Дневки находятся в кронах деревьев, в кустарниках, в высокой траве. В колках активны круглосуточно (с перерывом с 12 до 15 час.), наибольшая активность комаров наблюдается с 19 до 22 час. В южной лесостепи за сезон имеют три генерации: массовый вылет молодых (неразмножавшихся) самок I поколения 25–30 июня (из перезимовавших личинок), II поколение – 10–15 июля и III – 25–30 июля (Богданов, Волынец, 1971). Зимует в личиночной фазе.

Активный кровосос, нападающий примерно в равной степени на мелких млекопитающих, птиц и человека. Отмечена инфицированность комаров этого вида вирусами комплекса КЭ. В эксперименте показана способность *Co. richiardii* воспринимать вирус ОГЛ из крови зараженного животного и сохранять его до 8-10 суток (Волынец, Богданов, 1971; 1974), также из комаров *Co. richiardii*, отловленных в очаге ОГЛ на территории Омской области, были выделены штаммы нейротропного вируса, близкие к вирусу ОГЛ (Волынец и др., 1972).

Глава 2.2. Лихорадка Западного Нила

Общая характеристика

Впервые вирус ЗН был выделен в Уганде в 1937 году из крови лихорадящего пациента (Smithburn et. al, 1940). Возбудитель широко распространен в странах Центральной и Северной Африки, Индии, на Ближнем Востоке, в странах Южной Европы и в Средней Азии, где основными переносчиками инфекции являются комары р. *Culex* (Федорова, 2007). С 1999 г. возбудитель в результате заноса появился на территории Северной Америки, где за десятилетие получил широкое распространение и в настоящее время полностью пересек континент с охватом 42 штатов. В России впервые очаги ЛЗН выявлены в Астраханской области, в дальнейшем вспышки заболевания выявлены в Волгоградской и Ростовской областях РФ. Вирус ЗН (ВЗН) относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*, антигенный комплекс японского энцефалита.

Геном представлен однонитевой РНК положительной полярности (оцРНК⁺) около 11 тыс. нуклеотидных оснований, кодирующей один полипротеин, который трансляционно и посттрансляционно расщепляется под действием протеаз на три структурных белка: капсидный белок (protC), премолекуларный и мембранный (prM/M), и оболочный (E) белки, и семь неструктурных протеинов (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5) (Anishchenko и др., 2010; May et al., 2011; «Руководство...», 2013; Эндрюс, 1967). ВЗН принадлежит к антигенному комплексу японского энцефалита, в котором находятся возбудители энцефалита Сент-Луис, энцефалита долины Муррея, вирусы Каципакоре, Коутанго, Усуту, Яунде. ВЗН обладает значительной изменчивостью генетической структуры и обладает значительным антигенным разнообразием своих поверхностных структур. Это приводит к широкому спектру клинических проявлений болезни. Филогенетические исследования штаммов ВЗН, изолированных в различных

регионах мира, показали их вариабельность. Вирус имеет тесную экологическую связь с перелетными птицами, что обеспечивает возможность его переноса на большие расстояния.

Распространение и генетическое разнообразие ВЗН в Западной Сибири

В результате проведенных в последние 1,5 десятилетия исследований показан политипичный характер вируса ЗН (Прилипов и др., 2002; Дерябин и др., 2004). В настоящее время, на основании результатов молекулярно-генетического анализа геномов ВЗН выделяют, как минимум, пять генотипов вируса (таблица 2.2.1). Генотип 1 является самым распространенным и включает в себя как минимум два субгенотипа. К субгенотипу 1a относятся изоляты и штаммы ВЗН, выделенные на территории Евразии, Африки, Северной Америки; к субгенотипу 1b относится вирус Кунжин из Австралии. К представителям генотипа 2 относятся изоляты и штаммы ВЗН из западной, центральной и восточной Африки и Мадагаскара, а также ряда регионов Европы (Италия, Австрия, Греция) (Hernández-Triana et al., 2014). Представителем генотипа 3 на данный момент является ВЗН штамм Rabensburg virus 97–103, выделенный в 1997 году из комаров *Culex pipiens* в Республике Чехия (Hubálek et al., 1998). Генотип 4 представлен вариантом ВЗН (штамм LEIV Krnd 88–190), выделенным в 1998 году из клещей *Dermacentor marginatus* на территории России в горах Кавказа (Lvov et al., 2004). Следует отметить, что данный вид пастбищных клещей не имеет экологических связей с птицами. Генотип 5 содержит изолят ВЗН из Индии, выделенный в 1980 году из мозга умершего человека (Bondre et al., 2007). Следует отметить, что таксономический статус данного генотипа до сих не определен: существует мнение, что данный вариант вируса является субгенотипом 1c генотипа 1 ВЗН (Gray, Webb, 2014). Также, в Испании в 2006 году был выделен вариант ВЗН, описанный как возможный новый генотип вируса (Vázquez et al., 2010).

Таблица 2.2.1. Генотипическое разнообразие вируса ЗН

Генотип, субгенотип	Наименование прототипных штаммов и РНК-изолятов	Место и год выделения	Источник выделения
Lineage 1a	LEIV-Vlg00-27924	Россия, Волгоград, 2000	Кровь человека
	LEIV-Vlg99-27889	Россия, Волгоград, 1999	Кровь человека
Lineage 1b	NSW2011 (JN887352)	Австралия, 2011	Лошадь
	Вирус Кунжин, штамм MRM61C (D00246)	Австралия, 1960	Комары <i>Culex annulirostris</i>
Lineage 2	SA381/00 (EF429199)	Южная Африка, 2000	Клинический образец
	goshawk-Hungary/04 (DQ116961)	Венгрия, 2004	Ястреб-тетеревятник
Lineage 3	Rabensburg isolate 97-103 (AY765264)	Южная Моравия, Республика Чехия, 1997	Комары <i>Culex pipiens</i>
Lineage 4	LEIV-Krnd88-190 (AY277251)	Сев.-Зап. Кавказ, 1998	Степной клещ <i>Dermacentor marginatus</i>
Lineage 5	804994 (DQ256376)	Индия, 1980	Мозг умершего пациента

В нашей работе (Якименко и др., 2015) были исследованы штаммы ВЗН, выделенные на территории Западной Сибири в период 1981–2012 гг. из мозга грачей, нидиколов гнезд грачей, нидиколов гнезд береговых ласточек и пастбищных иксодовых клещей (табл. 2.2.2). Шесть штаммов изолированы от птенцов грачей, не покидавших гнездо, взрослых птиц и нидиколов гнезд

грачей (сапрофагов и гематофагов) в колониях, расположенных на восточном и северо-восточном берегах оз. Тенис (Тюкалинский и Крутинский р-ны Омской области, северная лесостепь) – крупном водоеме, площадью около 180 км², являющемся местом массового гнездования ряда видов птиц водно-околоводного комплекса. Один штамм изолирован от гнездово-норового иксодового клеща – специфического паразита береговых ласточек – *I. lividus*, из гнезд этого вида на юге Омской области. Два штамма изолированы от пастбищных иксодовых клещей – *I. persulcatus* в таежной зоне Омской области, и *I. pavlovskiyi* – на правобережном Приобье в Новосибирской области. Кроме этого, в анализе использована РНК ВЗН, полученная из микст-изолятов с территории, эндемичной по ОГЛ, при проведении работ по изучению структуры генома данного возбудителя: от ондатры из Курганской области (штамм из рабочей коллекции лаборатории арбовирусных инфекций нашего института) и изолят, полученный от нидиколов (*A. casalis*) из гнезда грачей в ноябре 1991 г. из колонии в Новосибирской области.

Распределение изолятов (штаммов) из Западной Сибири, основанное на анализе коротких фрагментов генома (рис. 2.2.1–2.2.3) показывает кластеризацию с последовательностями ВЗН (приложение 2.2.1), находящимися в режиме свободного доступа в GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>), относящимися к 1-му (субгенотип 1a) и 2-му генотипам ВЗН. Продолжительный (1981–2012 гг.) ряд наблюдений показывает, что в биоценозах северной лесостепи Западной Сибири оба генотипа заносятся регулярно. ВЗН субгенотипа 1a также обнаружены у перелетных птиц (грачей и уток двух видов) в Новосибирской области (Терновой и др., 2004). Кроме того, условия существования вируса в колониальных поселениях птиц могут обеспечивать длительную локальную циркуляцию в пределах гнездово-норового сообщества (птицы – членистоногие-гематофаги) и переживание неблагоприятного (зимнего) периода.

Таблица 2.2.2. Изоляция вируса Западного Нила от пастбищных иксодовых клещей, птиц и нидиколов их гнезд

Штамм	Источник изоляции	Объект изоляции	Место изоляции	Дата сбора материала
Нентерия-2	<i>Нидиколы</i> из гнезда грача	<i>Nentheria sp.</i>	Омская обл., северная лесостепь	Август 1981
957-958	Мозг	Грач (птены)		Июнь 1983
635	Мозг	Грач (взрослая особь)		Май 1986
2546	Мозг	Грач (птенец)		Май 1989
12644	<i>Нидиколы</i> из гнезда грача	<i>Androlaelaps casalis</i>		Апрель 2012
12652	<i>Нидиколы</i> из гнезда грача	<i>Androlaelaps casalis</i>		Апрель 2012
Ливидус-2	<i>Нидиколы</i> из гнезда береговой ласточки	<i>Ixodes lividus</i>		Омская обл., южная лесостепь
13395	<i>Нидиколы</i> из гнезда береговой ласточки	<i>Androlaelaps casalis</i>	Омская обл., северная лесостепь	Ноябрь 2014
12365	Иксодовый клещ	<i>Ixodes persulcatus</i>	Омская обл., южная тайга	Май 2007
12908	Иксодовый клещ	<i>Ixodes pavlovskyi</i>	Новосибирская обл., Приобье	Май 2011
10009*	<i>Нидиколы</i> из гнезда грача	<i>Androlaelaps casalis</i>	Новосибирская обл., северная лесостепь	Ноябрь 1991

Примечание: * – микст-изоляты ВКЭ-Дв и ВЗН.

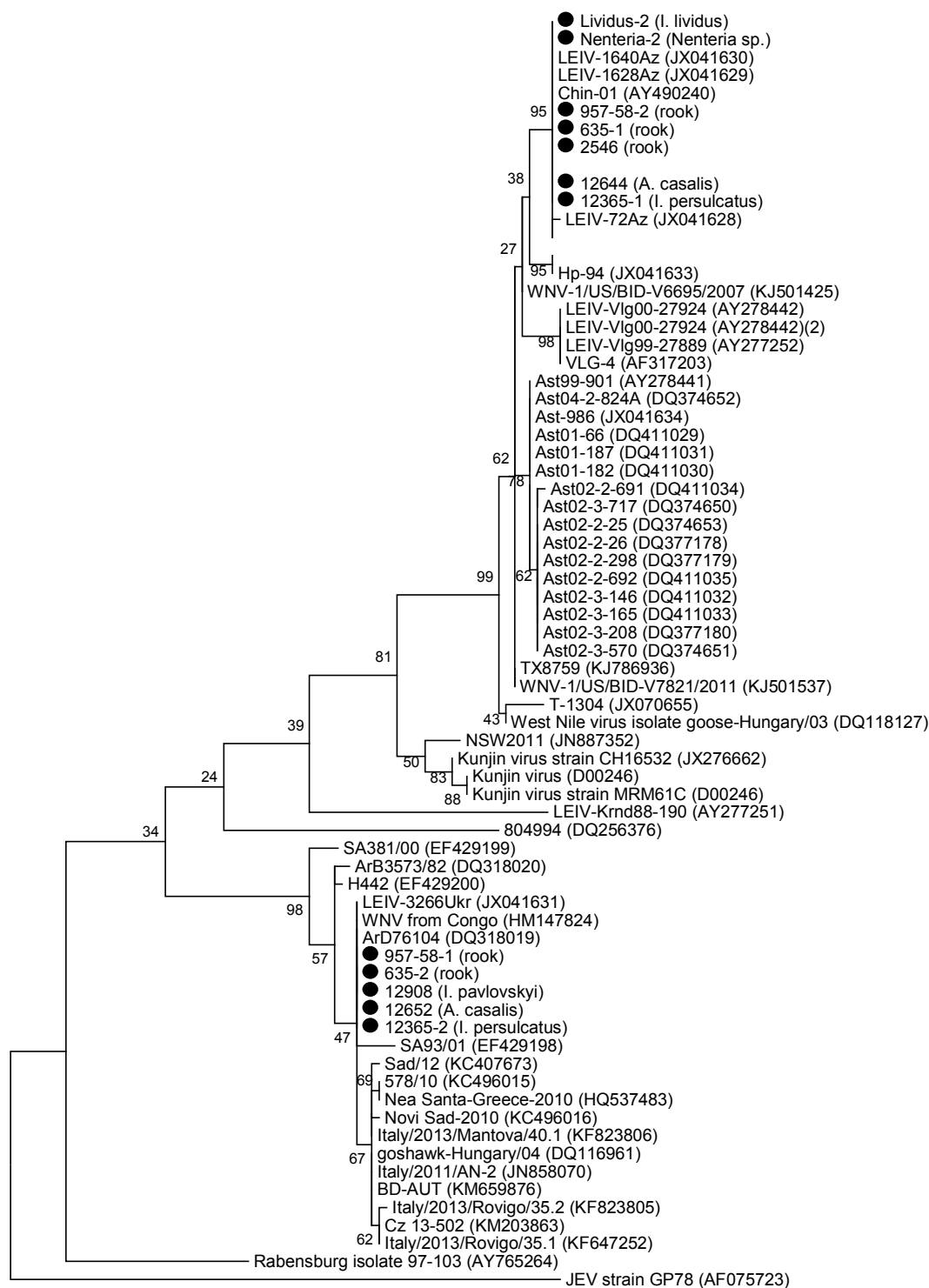


Рисунок 2.2.1. Дендрограмма, построенная на основании последовательностей фрагмента генома ВЗН (3610-3820 н.о. в последовательности генома ВЗН штамма LEIV-1640Az (JX041630)) методом максимального правдоподобия (maximum likelihood).

В узлах дендрограммы указаны индексы поддержки. Черными кружками отмечены штаммы ВЗН, выделенные в Западной Сибири. В скобках – коды доступа в GenBank. Внешняя группа – вирус японского энцефалита, штамм GP78 (AF075723).

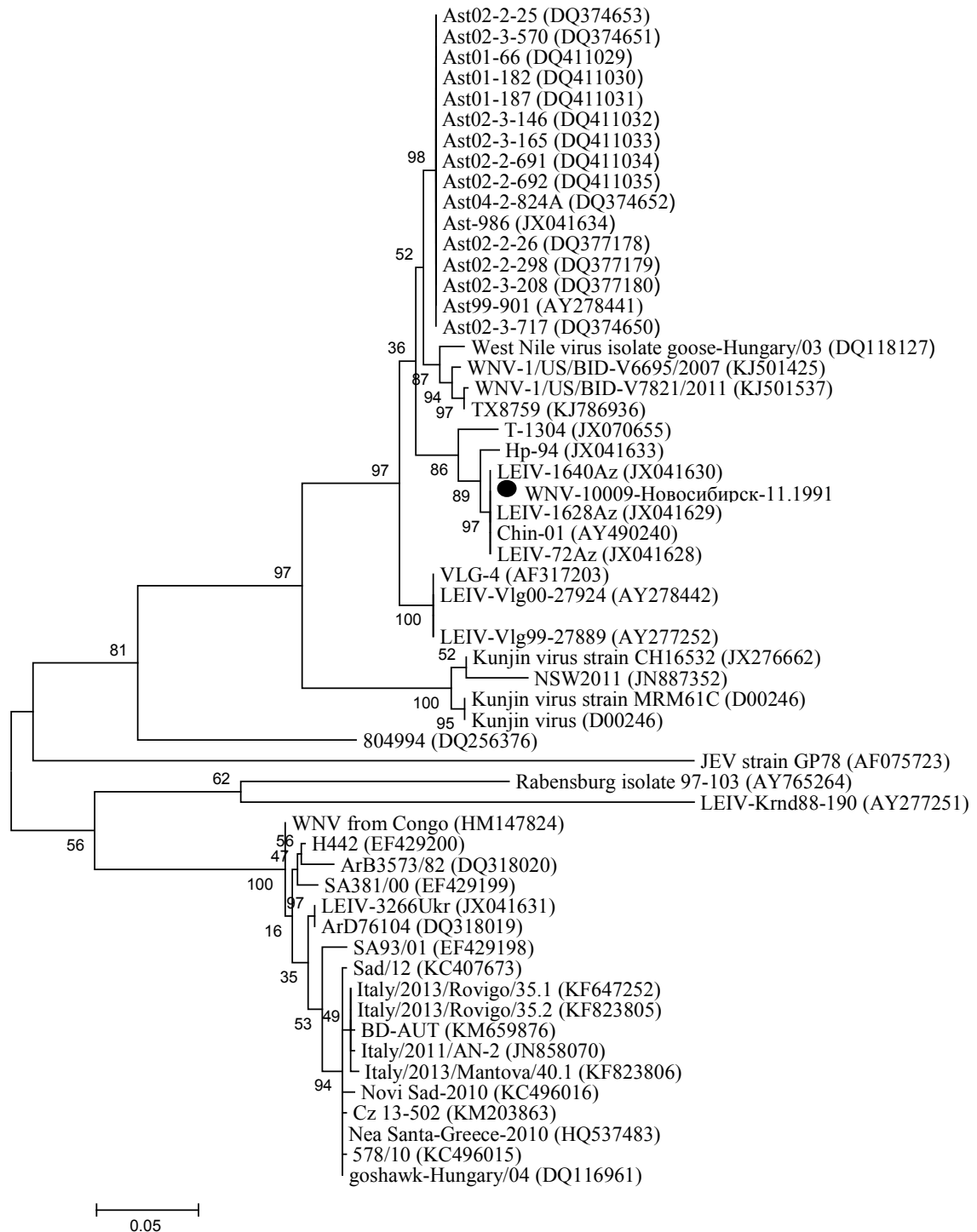


Рисунок 2.2.2. Дендрограмма, построенная на основании последовательностей фрагмента генома ВЗН (1265-1785 н.о. в последовательности генома ВЗН штамма LEIV-1640Az (JX041630)) методом максимального правдоподобия (maximum likelihood). В узлах дендрограммы указаны индексы поддержки. Черными кругами отмечены штаммы ВЗН, выделенные в Западной Сибири. В скобках – коды доступа в GenBank. Внешняя группа – вирус японского энцефалита, штамм GP78 (AF075723).

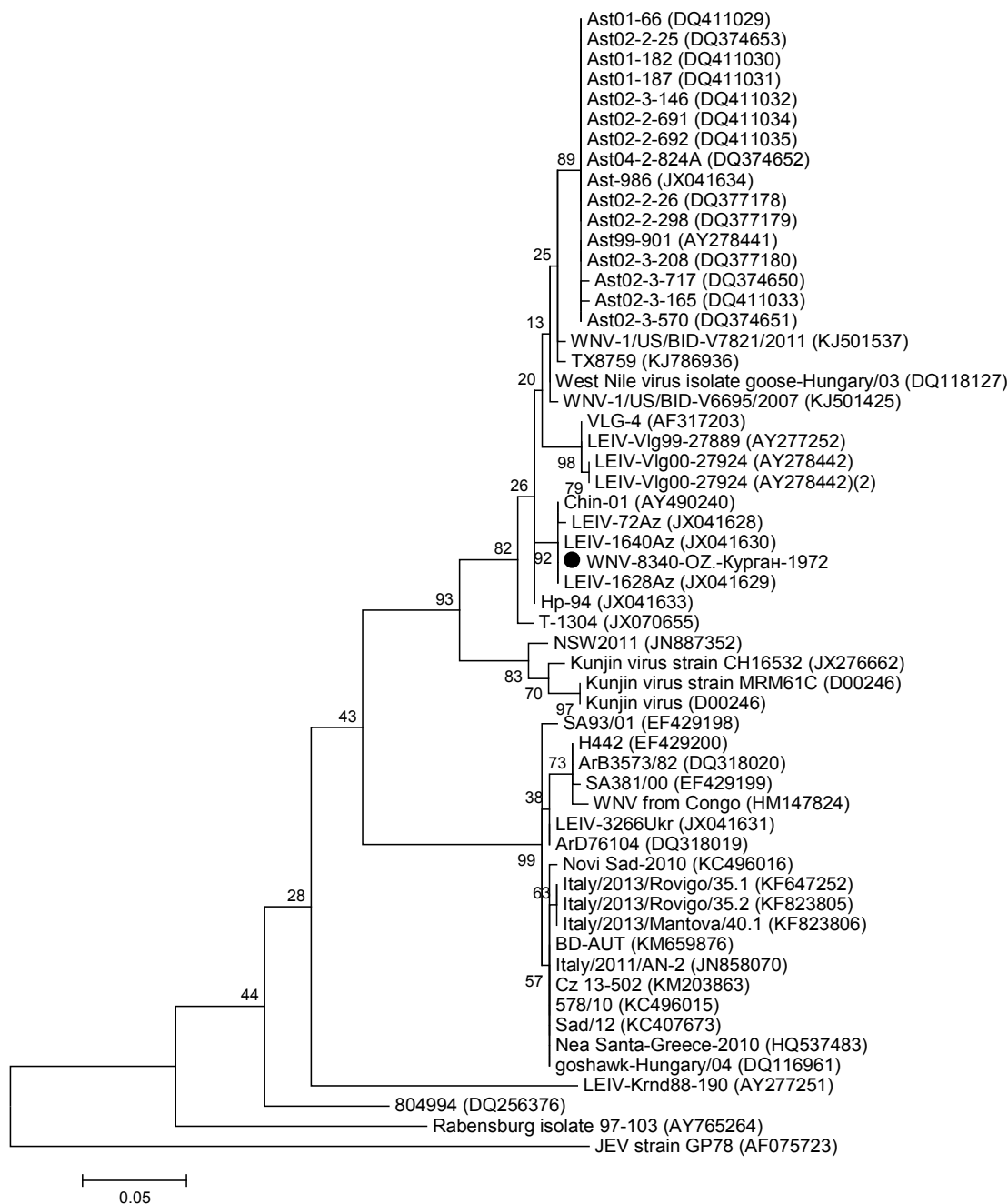


Рисунок 2.2.3. Дендрограмма, построенная на основании последовательностей фрагмента генома ВЗН (121-389 н.о. в последовательности генома ВЗН штамма LEIV-1640Az (JX041630)) методом максимального правдоподобия (maximum likelihood). В узлах дендрограммы указаны индексы поддержки. Черными кругами отмечены штаммы ВЗН, выделенные в Западной Сибири. В скобках – коды доступа в GenBank. Внешняя группа – вирус японского энцефалита, штамм GP78 (AF075723).

На возможность последнего указывают результаты исследования нидиколов в гнездах грачей в апреле 2012 г., до прилета грачей на колонию – штаммы изолированы от гамазовых клещей *A.casalis* (изоляты 12644 и 12652, рис. 2.2.1) из разных гнезд. Учитывая сроки изъятия гнезд (15–16.04.2012), время извлечения членистоногих из гнезда (около 4 недель), то с момента покидания грачами гнезд в 2011 г. до момента исследования клещей прошло более 11 месяцев, из которых не менее 5 месяцев клещи находились в состоянии анабиоза (зимний период, при температурах ниже 0⁰С), около 5 месяцев – при положительных температурах, в состоянии физиологической активности (для данных групп клещей не характерны диапаузы). Так как данные два изолята, полученные от клещей из двух разных гнезд одной колонии грачей, кластеризуются с группами последовательностей ВЗН, относящимися к двум разным генотипам, есть основание предполагать либо наличие на местах зимовок птиц очагов ЛЗН, ассоциированных с данными двумя генотипами, либо последовательный занос в разные годы и укоренение вируса на месте заноса. Грачи из северной лесостепи Омской области зимуют в Предкавказье (Дагестан, Осетия), Восточном Приазовье (Ставропольский и Краснодарский края, Ростовская область), дельте Волги (Астраханская область), Северо-Восточном Прикаспии (Гурьевская и Мангышлакская области, Казахстан). Грачи с юга Новосибирской области зимуют в южных частях Средней Азии и Казахстана, Азербайджане и северных районах Ирана, грачи из северо-западных районов Казахстана зимуют на тех же территориях, что и грачи из Омской области (Гаврилов и др., 1985). Птицы из Северного и Восточного Казахстана зимуют преимущественно в Средней Азии, причем зимовки птиц, гнездящихся в более западных районах Западной Сибири, также расположены западнее, чем у птиц

из восточных и центральных районов Казахстана. То есть птицы из Омской области либо контактируют с возбудителем во время транзита через территорию Поволжья по пути на зимовки, либо – на местах зимовок. Сроки транзита через территорию Поволжья в весенний период приходятся на период отсутствия там кровососущих двукрылых.

В отличие от грачей, береговые ласточки, зимовки которых тяготеют к Восточной и Северной Африке, во время весенних миграций пересекают эндемичные по ЛЗН территории Евразии в период активности кровососущих двукрылых. Кроме того, на путях миграций этот вид может организовывать ночевки не только в тростниковых займищах водоемов, где и происходит контакт с комарами, но и посещать колонии по пути следования (Якименко и др., 1995). Во время таких посещений осуществляется контакт с членистоногими – нидиколами. За счет таких контактов возможно инфицирование птиц и (или) нападение норových иксодовых клещей (в нашем случае – *I. lividus*). Именно за счет таких контактов происходит формирование фауны нидиколов в гнездах ласточек на юге Западной Сибири.

Обнаружение вируса в пастбищных иксодовых клещах обусловлено орнитофильностью данных видов иксодид – личинки и нимфы таежного клеща и *I. pavlovskyi* активно прокармливаются на птицах, гнездящихся или кормящихся в приземном ярусе. Учитывая предшествующие результаты лабораторных экспериментов о способности фоновых видов иксодид фауны Западной Сибири воспринимать при питании и передавать трансфазово вирус ЗН, эти данные являются подтверждением этих экспериментов (см. Котельникова, 1978).

Анализ гомологии полученных последовательностей показал, что часть исследуемых штаммов обладает высоким уровнем гомологии (>98 %) с представителями ВЗН генотипа 1, субгенотип 1а, а часть – с представителями генотипа 2 (Таблица 2.2.3). В трех образцах было показано присутствие последовательностей двух генотипов ВЗН.

Таблица 2.2.3. Уровень гомологии (в %) гомологичных последовательностей фрагментов геномов изолятов ВЗН из Западной Сибири и последовательностями ВЗН, находящимися в режиме свободного доступа в GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>)

Образец	Уровень гомологии		
	100 %	99 %	98 %
12644 (<i>A.casalis</i>)	LEIV-1640Az (JX041630) LEIV-1628Az (JX041629) Chin-01 (AY490240)	LEIV-72Az (JX041628)	WNV-1/US/BID-V6695/2007 (KJ501425) WNV-1/US/BID-V7821/2011 (KJ501537) TX8759 (KJ786936) и т.д. из США
12365-1 (<i>I.persulcatus</i>)			
2546 (грач <i>Corvus frugilegus</i>)			
Нентерия-2 (<i>Nenteria sp.</i>)			
635-1 (грач <i>Corvus frugilegus</i>)			
Ливидус-2 (<i>I.lividus</i>)	LEIV-3266Ukr (JX041631); Штамм из демократической республики Конго (HM147824); ArD76104 (DQ318019)	Italy/2013/Mantova/40.1 (KF823806); BD-AUT (KM659876); Austria/2008_gh (KF179640); Italy/2011/AN-2 (JN858070); goshawk-Hungary/04 (DQ116961); Cz 13-502 (KM203863); Novi Sad-2010 (KC496016); 578/10 (KC496015); Italy/2013/Rovigo/35.1 (KF647252); Sad/12 (KC407673); Nea Santa-Greece-2010 (HQ537483)	Italy/2013/Rovigo/35.2 (KF823805) H442 (EF429200) SA93/01 (EF429198) ArB3573/82 (DQ318020)
12652 (<i>A.casalis</i>)			
12908 (<i>I.pavlovskiyi</i>)			
12365-2 (<i>I.persulcatus</i>)			
635-2 (грач <i>Corvus frugilegus</i>)			
957-58 (грач <i>Corvus frugilegus</i>)	LEIV-1640Az (JX041630.1) LEIV-1628Az (JX041629.1) LEIV-72Az (JX041628.1) Chin-01 (AY490240.2)	PTRoxo (AM404308) Eg101 (AF260968) 96-1030 (AF130363) twn9 (HM051416) 68856 (EU249803)	Hp-94 (JX041633)
WNV-10009-Новосибирск-11.1991			
WNV-8340-Oz.Курган 1991	LEIV-1640Az (JX041630.1) LEIV-1628Az (JX041629.1) Chin-01 (AY490240.2)	LEIV-72Az (JX041628.1) Hp-94 (JX041633) 68856 (EU249803) PTRoxo (AM404308) Eg101 (AF260968) и штаммы из США	Штаммы из США

Эпизоотология

В эпизоотологии вируса ЗН ведущее значение отводится птицам. В схеме циркуляции «комар-птица-комар» имеют значение орнитофильные виды комаров родов *Culex* и *Aedes*, реже *Anopheles* (Антонов и др., 2012). Основное эпидемиологическое значение имеют комары рода *Culex*. Человек и другие млекопитающие являются обычно тупиком для инфекции, так как уровень вирусемии не являются достаточными для обратной передачи переносчику. Передача ВЗН птицам и млекопитающим происходит в дермальный слой кожи, зараженной высокими титрами вируса комариной слюной, во время поиска кровеносного сосуда. У спонтанно инфицированных ворон вирус индицировали гистологическими, молекулярно-генетическими (ПЦР) и вирусологическими методами в мозгу, печени, селезенке, сердце и почках (Gibbs et al., 2005; Pannelle et al., 2001; Wunschmann et al., 2004).

В пределах очаговых территорий Поволжья и Астраханской области сезонные пики эпидемической активности очагов ЛЗН связаны с сезонными периодами наивысшей активности кровососущих комаров (Савченко и др., 2007). Основными эпидемически значимыми переносчиками в очагах этого типа, по результатам исследований 1999–2005 гг., являлись комары р. *Culex*. Из теплокровных наибольшая инфицированность ВЗН выявлялась у врановых птиц. Кроме комаров р. *Culex* в качестве потенциальных переносчиков вируса ЗН рассматривают три вида р. *Anopheles* и пять видов – представителей родов *Aedes* и *Ochlerotatus* (Федорова, 2007). Участие в циркуляции вируса ЗН, в том числе – и в передаче вируса человеку, подтверждена для *Cx.pipiens*, *An.messeae*, *Ae. vexans*. В Поволжских очагах ЛЗН доказана существенная роль земноводных и экологически связанных с ними комаров (*Uranotaenia unguiculata*) в эпизоотологии вируса ЗН.

В Западной Сибири, несмотря на наличие в фауне комаров по крайней мере десяти видов в составе четырех родов (*Anopheles*, *Aedes*, *Ochlerotatus* и *Culex*), экологически связанных с вирусом ЗН, возбудитель в комарах был обнаружен однократно – штамм ВЗН был изолирован из самок комаров *O. flavescens* на юге Омской области (Тарасевич и др., 1978).

Впоследствии, при исследовании в биопробе на сосунках беспородных белых мышей более 200 тыс. самок и более 4 тыс. личинок и куколок кровососущих комаров, около 3 тыс. мошек и более 6 тыс. мокрецов, отловленных на разных административных территориях Алтая и юга Западной Сибири, вирус ЗН выделен не был (Калмин и др., 1991). Тем не менее гемагглютинины к ВЗН периодически выявлялись в крови лабораторных белых мышей, зараженных суспензиями комаров *O. flavescens* (Россолов, Бусыгин, 1981), что, по-видимому, свидетельствовало о латентном течении инфекционного процесса. В современный период (2012–2015 гг.) нами проводилось исследование крови высоко восприимчивых и чувствительных к ЛЗН домашних животных – лошадей (жеребят в возрасте менее 1 года, исследовано около 250 экз.) на наличие иммунного ответа. Территории обследования данных животных были выбраны, исходя из полученных данных о заносе и циркуляции ВЗН в убежищных сообществах гнезд грачей и наличия условий для активного нападения кровососущих комаров на жеребят в период свободного выпаса. Учитывая, что выпас начинается в период снижения активности иксодовых клещей или его прекращения, а также расположения пастбищ в группах местообитаний, где численность таежного клеща низка даже в периоды сезонной активности вида, мы считаем, что уровнем контактов неполовозрелых лошадей с иксодовыми клещами можно пренебречь. В результате этих исследований не было выявлено ни одного случая иммунного ответа у жеребят к ЛЗН на фоне активных контактов с кровососущими комарами, что также подтверждает крайнюю редкость появления вируса в популяции комаров в нашем регионе.

Экспериментально (Котельникова, 1978) была продемонстрирована принципиальная возможность передавать вирус ЗН при кровососании и трансфазово таежными, луговыми и степными клещами, составляющими основу фауны пастбищных иксодид в равнинной части Западной Сибири. Потенциально выявляемые в регионе случаи заболевания ЛЗН людей могут быть связаны именно с этим феноменом, и заражение (вероятно) может осуществляться при присасывании пастбищных иксодовых клещей, имеющих экологические связи с птицами. В фауне иксодид Западной Сибири это прежде всего *Ixodes persulcatus* и *I. pavlovskyi*.

Интерес к проблеме ЛЗН в регионе был связан с проводимыми в 70-х гг. XX века исследованиями роли перелетных птиц в переносе арбовирусов. Впервые наличие серопозитивных к ЛЗН птиц (0,4 %) на территории региона было выявлено в Новосибирской области (Ястребов и др., 1971) в 1970 г. среди еще не покидавших гнезда птенцов грачей. В 1972 г. в тех же колониях грачей доля серопозитивных к ЛЗН слетков грачей составляла 11,0 % (титры гемагглютининов от 1:10 до 1:80), взрослых птиц – около 7 % (Ястребов и др., 1973). Кроме того, в крови лабораторных животных, зараженных пробами мозга птенцов грачей, были выявлены антитела к ВЗН, что свидетельствует об эпизоотическом процессе, протекавшем в гнезде (Ястребов и др., 1978). Кроме грачей, антитела в низких титрах к ВЗН на территории Барабинской низменности выявлялись у серой вороны, нескольких видов чайковых и гусеобразных. Обращают на себя внимание и результаты обследования грачей в природных очагах ЛЗН в Астраханской области. Серологические исследования сывороток крови молодых грачей из колоний в верхней части дельты Волги (Березин и др., 1972) показывали наибольшую долю серопозитивных птиц в июне, что совпадало с активностью орнитофильных комаров *C. ripiens* и интерпретировалось именно с этих позиций. При этом наибольшая активность очагов ЛЗН в нижней дельте приурочена к поздне-летнему периоду и связана с максимальным выплодом кровососущих двукрылых в этой части дельты. Из внимания этих исследователей выпало то обстоятельство, что гнезда грачей населяет довольно широкий в видовом отношении перечень видов клещей, в том числе – с различным типом гематофагии. Эти виды потенциально могут обеспечивать локальную циркуляцию вируса ЗН в гнезде в период инкубации кладок и выкармливания птенцов грачами.

В лабораторном эксперименте (Федорова и др., 1971) была показана чувствительность птенцов грачей к ВЗН при подкожном введении вируса в титре 1000 ЛД_{50/мл}. У птенцов наблюдали манифестное течение инфекции, сопровождающееся их гибелью и всплесками вирусемии. Титры вируса в крови оказались достаточными для инфицирования кровососущих комаров – вирус

изолировали из комаров *O. flavescens* после кормления самок этого вида на инфицированных птенцах. Примерно в этот же период времени проводились экспериментальные исследования чувствительности диких уток (Ставский, 1971) и сизых голубей (Семенов, Чунихин, 1971) к вирусу ЗН. В результате была показана низкая чувствительность (но высокая восприимчивость) хохлатых чернетей и голубей к вирусу, с латентным течением инфекционного процесса. У последних, кроме того, наблюдали периодические всплески вирусемии на протяжении 100 дней (время эксперимента) на фоне иммунного ответа, формирующегося с 6 дня с момента заражения и сохраняющегося до конца эксперимента (титры гемагглютининов 1:80–1:320). Персистенция вируса ЗН имела место и у домовых воробьев (Nemeth et al., 2009).

Серологическое обследование птиц на севере региона (Южный Ямал) также дает основание для предположения о возможности заноса ВЗН и его локальной циркуляции в высоких широтах (Кучерук и др., 1974). Так у перелетных птиц местной фауны – белых куропаток (взрослых и молодых) выявлялись гемагглютинины к ВЗН в достаточно высоких титрах (от 1:40 до 1:160). У перелетных птиц – нескольких видов уток – гемагглютинины (от 1:40 до 1:160) выявлялись у молодых особей, еще не покидавших территорию рождения. Нами (Якименко и др., 1990) в 1989 г. проводилось изучение иммунного статуса аборигенных (не покидающих регион) и интродуцированных видов млекопитающих Южного Ямала, добываемых во время промысла в осенне-зимний период (сентябрь-февраль) в отношении ВКЭ и ВЗН. Специфические гемагглютинины к ВЗН выявлялись у ондатр, зайцев и, единично, у хищников. Как правило, образцы реагировали с антигеном ВКЭ и ВЗН одновременно (что типично для РТГА с антигенами к данным вирусам, относящимся к одному семейству). Однако образцы (n=20) от зайцев (в 15 % случаев) реагировали только с антигеном к ВЗН в титрах 1:160 – 1:320, а в двух случаях образцы от ондатр реагировали с двукратным превышением титров антител к ВЗН (1:320 и 1:160) по сравнению с ВКЭ. Эти данные дают основание предполагать, что занос ВЗН с птицами имеет широкие географические границы (что объяснимо в связи

с направленностью миграционных потоков перелетных птиц в регионе), и что локальная циркуляция возбудителя (как минимум на уровне формирования псевдоочага) возможна и в высоких широтах. Эпидемические последствия такого заноса вероятно могут зависеть от генотипа заносимого вируса.

Таким образом, на протяжении всего периода активного изучения роли птиц в переносе вирусов, делались попытки решить вопрос о механизме формирования очага или псевдоочага инфекций в месте заноса. Как отмечено выше, была показана восприимчивость некоторых видов птиц к возбудителю ЛЗН на фоне крайне низкой чувствительности к вирусу или полному отсутствию таковой; возможность достаточно длительной персистенции вируса в организме таких птиц с периодическими всплесками вирусемии, обеспечивающими достаточно высокое содержание вируса в крови для инфицирования кровососущих двукрылых; возможность трансфазовой передачи вируса некоторыми видами иксодовых клещей местной фауны. Проблема объяснения механизма внедрения ВЗН в местные экосистемы при участии кровососущих двукрылых заключается в том, что в условиях практически всей территории Западной Сибири периоды прилета абсолютного большинства видов птиц околородного и водно-болотного комплексов, а также грачей (то есть видов, имеющих реальные возможности контактировать на местах пролета и зимовок с эпизоотически активными очагами ЛЗН) на места гнездования, не совпадают по времени с периодами массового выплода кровососущих двукрылых. В связи с этим для успешного внедрения занесенного вируса в местные экосистемы необходим эффективный механизм, обеспечивающий эпизоотический процесс в период прилета птиц. Было высказано предположение, что звеном, обеспечивающим эффективный механизм резервации заносимого вируса, может быть комплекс убежищных членистоногих, населяющих гнезда некоторых видов птиц (Тагильцев и др., 1990). В лабораторных экспериментах (Тагильцев, Тарасевич, 1982) гамазовые клещи из числа неисключительных гематофагов (*Androlaelaps casalis*) – типичные нидиколы ряда видов птиц (в том числе – грачей и береговых ласточек на юге региона) при питании

на инфицированных ВЗН животных (применялся эталонный штамм Египет-101) заражались и передавать сосункам белых мышей через 30 суток после заражающего кормления. Способность инфицировать культуру клеток СПЭВ при питании сохранялась до 44 суток. Кроме того, установлена возможность трансвариальной передачи вируса потомству от самки, и при последующем метаморфозе (трансфазовая передача) у клещей этого вида – в одной (из 11) серии эксперимента ВЗН изолировали от нимфальной стадии развития *A. casalis*, полученной от зараженных самок. В ходе дальнейших исследований нидиколов гнезд грачей была подтверждена возможность заноса ВЗН с грачами, и его локальная циркуляция в гнездах при участии неисклчительных гематофагов – вирус ЗН был изолирован в мае 1983 г. от спонтанно инфицированных клещей *A. casalis* из гнезд со слетками (Россолов, Якименко, 1985).

В экспериментах с нидиколом гнезд грызунов – неисклчительным гематофагом *A. glasgowi* – также получены результаты, подтверждающие сохранения ВЗН в организме клещей и передачи сосункам белых мышей при питании на них на 30-й и 44-й дни после заражающего кормления. При питании инфицированных клещей этого вида на культуре клеток СПЭВ изоляцию вируса ЗН удавалось провести до 37-38 суток с момента заражения клещей. Была показана принципиальная возможность передачи вируса потомству – в двух (из восьми) сериях эксперимента вирус ЗН был изолирован от нимфальной стадии развития клещей этого вида, полученных от инфицированных самок.

В экспериментах с исклчительным гематофагом из числа нидиколов грызунов – *Ornythonissus bacoti* – также продемонстрирована возможность заражения клещей ВЗН при питании на инфицированных животных, сохранения и передачи реципиенту через 20 суток после заражения. Кроме того, в двух сериях экспериментов (из восьми) вирус был изолирован от самок второго поколения – потомства инфицированных клещей.

Проведенные исследования изолятов, полученных от птенцов грачей, нидиколов из гнезд колониальных птиц (грачи и береговые ласточки) в период с 1981 по 2012 гг., подтвердили наше представление о механизмах формирования локальных

очагов ЛЗН в регионе в результате заноса с птицами (таблица 2.2.1). При исследовании в разные периоды колониальных гнездовых грачей (птенцов и (или) взрослых птиц, членистоногих из гнезд), расположенных в береговой зоне оз. Салтаим-Тенис (Омская область, северная лесостепь) в период выкармливания птенцов, достаточно регулярно удавалось изолировать штаммы ВЗН, высоковирулентные для лабораторных животных. При этом вирус удавалось изолировать как непосредственно в период пребывания птиц на гнездовых (из мозга взрослых птиц и не покидавших гнезда птенцов), так и после их завершения и даже после завершения зимнего периода (до прилета птиц на колонии) при исследовании членистоногих из числа нидиколов гнезд грачей и береговых ласточек. Следует подчеркнуть, что на момент прилета грачей на гнездовья, в период инкубации кладок, кровососущие двукрылые на территории отсутствуют, а характер расположения гнезд исключает контакт птенцов с комарами до вылета птенцов из гнезда.

Территория северной лесостепи является эндемичной по ОГЛ и КЭ. В рамках исследований штаммов вируса ОГЛ, полученных в разное время и с разных территорий, в нескольких случаях было показано присутствие РНК вируса ЗН – при исследовании штамма, изолированного из мозга ондатры в 1972 г. в Курганской области (WNV-8340-Oz.Курган 1991), и в двух случаях – при исследовании гамазовых клещей (*A. casalis*) из гнезд грачей из Новосибирской области в 1991 г. (WNV-10009-Новосибирск-11.1991). В последнем случае изоляцию проводили через 6 месяцев и позднее после вылета птиц из гнезд (гнезда изъяты в октябре, то есть через четыре месяца после вылета птенцов). Это указывает на то, что даже в случае сочетанной циркуляции в очаге аборигенных и заносных форм вирусов, условия эпизоотического процесса в гнездах птиц могут обеспечивать достаточно длительное существование заносимого возбудителя. Ранее (см. Федорова и др., 1971) была показана чувствительность птенцов грачей к вирусу ЗН, сопровождающаяся манифестной инфекцией. В последующих исследованиях (Кононова и др., 2004; Кононова, 2010) РНК вируса ЗН была индигирована в мозгу двух отстрелянных серых ворон и трупов четырех

грачей, найденных в Кулундинской низменности в 2003 г., и трех грачей, отстрелянных в Барабинской низменности в 2004 г. В целом более чем у 19 % грачей и ворон был выявлен антиген ВЗН. Косвенно это подтверждает патогенность вируса для врановых. Нами при наблюдении за колониями грачей в местах проведения исследований по ЛЗН в период с 1981 по 2012 гг. было обращено внимание на стойкое снижение количества доживающих до вылета из гнезда слетков более, чем вдвое относительно размера кладки птицы. Отмечена именно преимущественная гибель птенцов в возрасте до двух недель, что, исходя из полученных данных, может быть следствием эпизоотии, ассоциированной с вирусом ЗН.

По-видимому, и другие виды птиц, в гнездах которых формируется достаточно устойчивое сообщество нидиколов, могут обеспечивать циркуляцию заносимого вируса, на что указывает изоляция вируса ЗН от личинок *I. lividus*. Выше отмечалось, что в экспериментах была осуществлена трансфазовая передачи вируса ЗН в ходе метаморфоза пастбищных иксодовых клещей фауны Западной Сибири (см. Котельникова, 1978). Изоляция вирулентных штаммов вируса ЗН от таежного клеща в Омской области и от *I. pavlovskyi* – в Новосибирской, впервые непосредственно подтверждают эти данные, полученные более 30 лет назад.

Заболееваемость

Впервые в РФ заболееваемость ЛЗН была зарегистрирована в Астраханской области в 1967 г. До этого периода иммунная прослойка населения составляла около 10 %, в период 1967–1970 гг. – около 16 %, а в конце 80-х гг. XX-го века резко возросла и варьировала в разные годы с максимумом около 50 % (Шишкина и др., 2001). В целом до 1995 г. заболееваемость в странах Южной Европы и России носила характер спорадических случаев. Ситуация изменилась с 1996–1997 гг. (вспышки в Румынии (Tsai et al., 1998) и Чехии соответственно). В 1999 г. вспышка ЛЗН была зарегистрирована в Астраханской,

Волгоградской областях и Краснодарском Крае РФ, в 2005 г. – в Астраханской области (Локтев, 2007; Карань и др., 2007; Савченко и др., 1997). В 2010–2011 гг. случаи заболевания людей ЛЗН зарегистрированы в Румынии и Италии (Sirbu et al., 2011; Vagnarelli et al., 2011).

Официальная регистрация заболеваемости населения возбудителем данной инфекции в Западной Сибири отсутствует. Ретроспективно установлены единичные случаи заболевания, в частности – на территории Курганской области, в 90-х гг. XX-го века. О наличии контактов местного населения с возбудителем ЛЗН судят по величине иммунной прослойки, составляющей для равнинных территорий региона около $(0,4–0,5) \pm (0,2–0,3) \%$ (Бусыгин и др., 1989), что почти в 30 раз ниже, чем в дельте Волги в Астраханской области (Бутенко и др., 1968) и в 50 раз – чем в дельте Дуная (Сиденко и др., 1968). Во время эпидемических вспышек на юге России в 1999 и 2005 гг. на фоне роста общего интереса к данной проблеме были выявлены единичные случаи заболевания ЛЗН в Западной Сибири (Локтев, 2007), при этом был зарегистрирован высокий уровень иммунной прослойки у населения степных районов Западной Сибири (9,1–20,3 %).

Таким образом, из информации о распространении данной инфекции в Западной Сибири, следует, что локальные очаги и сезонные псевдоочаги ЛЗН существуют в регионе постоянно, что вероятно связано с достаточно регулярным заносом инфекции перелетными птицами. Участие в этом процессе перелетных врановых, восприимчивых и достаточно чувствительных к данной инфекции, и формирующих в своих гнездах в пределах гнездового ареала устойчивое сообщество членистоногих, имеющих в своем составе гематофагов, обеспечивает закрепление возбудителя на территории заноса. Особенности экологии данной группы убежищных паразитов способствуют переживанию возбудителя в их организме в течение всего неблагоприятного периода времени, когда основные хозяева (птицы) отсутствуют на территории гнездового ареала. Этот факт можно считать установленным, однако роль повторных заносов вируса в данные сообщества остается неоднозначной. Решить данный вопрос возможно только на основании анализа полного или

протяженных фрагментов генома сибирских штаммов вируса и изолятов из области рецентных эпидемически активных очагов ЛЗН на местах зимовок перелетных птиц фауны Западной Сибири. По-видимому вероятность контакта кровососущих комаров с инфицированными донорами, в качестве которых выступают чувствительные к инфекции виды птиц, является крайне редким, случайным событием, возможно имеющим место при каких-либо аномалиях репродуктивного периода у птиц. Изменение ситуации возможно в случае формирования регулярных климатических аномалий, происходящих на фоне изменений климата глобального или циклического характера. Основное значение в поддержании невыраженного эпидемического процесса, который связан именно с формированием псевдоочагов инфекции, принадлежит орнитофильным видам или фазам развития клещей рода *Ixodes*. Заражающиеся на стадии нимфы при питании на перелетных птицах в период весенней миграции (например, на дроздах), они передают в результате трансфазовой передачи возбудитель взрослым особям, которые инфицируют людей при кровососании. Относительная редкость данных событий и определяет низкий уровень регистрируемой в регионе заболеваемости населения ЛЗН.

Приложение 2.2.1. Коды доступа в GenBank последовательностей, взятых для анализа

Штаммы разных генотипов			
Коды доступа	Штаммы и изоляты	Место и год выделения	Источник выделения
	LEIV-Vlg00-27924	Россия, Волгоград, 2000	Кровь человека
	LEIV-Vlg99-27889 Lineage 1a	Россия, Волгоград, 1999	Кровь человека
JN887352	NSW2011 Lineage 1b	Австралия, 2011	Лошадь
D00246	Вирус Кунжин, штамм MRM61C Lineage 1b		
EF429199	SA381/00 Lineage 2	Южная Африка, 2000	Клин.образец

Продолжение приложения 2.2.1.

Коды доступа	Штаммы и изоляты	Место и год выделения	Источник выделения
DQ116961	goshawk-Hungary/04 Lineage 2	Венгрия, 2004	ястреб-тетеревятник
AY765264)	Rabensburg isolate 97-103 Lineage 3	Южная Моравия, Республика Чехия, 1997	Комары <i>Culex pipiens</i>
AY277251	LEIV-Krnd88-190 Lineage 4	Сев.-Зап. Кавказ, 1998	Степной клещ <i>Dermacentor marginatus</i>
DQ256376	804994 Lineage 5	Индия, 1980	Мозг умершего пациента
AF075723	Вирус японского энцефалита штамм GP78		
Штаммы из GenBank			
JX041630	LEIV-1640Az	Азербайджан, 1967	птица
JX041629	LEIV-1628Az	Азербайджан, 1967	птица
AY490240	Chin-01	Китай	неизв
JX041628.1	LEIV-72Az	Азербайджан, 1970	Аргасовый клещ <i>Ornithodoros capensis</i>
KJ501425.1	WNV-1/US/BID-V6695/2007	США, 2007	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>
KJ501537.1	WNV-1/US/BID-V7821/2011	США, 2011	Пул комаров
KJ786936.1	TX8759	США, 2012	<i>Cyanocitta cristata</i> (Blue Jay)
JX041631	LEIV-3266Ukr	Украина, 1980	Птица
NM147824	From Democratic Republic of the Congo	Демократическая республика Конго, 1958	n/a
KF823806	Italy/2013/Mantova/40.1	Италия, 2013	Моча пациента
KM659876	BD-AUT	Австрия, 2014	Кровь донора
KF179640	Austria/2008_gh		

Продолжение приложения 2.2.1.

Коды доступа	Штаммы и изоляты	Место и год выделения	Источник выделения
JN858070	Italy/2011/AN-2	Италия, 2011	Моча пациента
KM203863	Cz 13-502	Республика Чехия, 2013	Комары <i>Culex modestus</i>
KC496016	Novi Sad-2010	Сербия, 2010	Комары <i>Culex pipiens</i>
KC496015	578/10	Венгрия, 2010	Лошадь
KF647252	Italy/2013/Rovigo/35.1	Италия, 2013	Моча пациента
KC407673	Sad/12	Сербия, 2012	Northern goshawk
HQ537483	Nea Santa-Greece-2010	Греция, 2010	Пул комаров <i>Culex pipiens</i>
KF823805	Italy/2013/Rovigo/35.2	Италия, 2013	Моча пациента
EF429200	H442	Южная Африка, 1958	Клин. образец
EF429198	SA93/01	Южная Африка, 2001	Клин. образец
DQ318020	ArB3573/82	Центрально-африканская республика, n/a	n/a
AY278442	LEIV-Vlg00-27924	Волгоград, Россия, 2000	Кровь пациента
AY278441	Ast99-901	Астрахань, Россия, 1999	Кровь пациента
AF317203	VLG-4	Волгоград, Россия, 1999	Мозг умершего пациента
	Ast02-2-298 (DQ377179)	Россия, n/a	Грач <i>Corvus frugilegus</i>
DQ377178	Ast02-2-26	Россия, n/a	<i>Hyalomma marginatum</i>
JX041634	Ast-986	Астрахань, Россия, 1999	Клин. образец
JX041633	Hp-94	Астрахань, Россия, 1963	<i>Hyalomma plumbeum plumbeum</i>
DQ374652	Ast04-2-824A	Россия, n/a	<i>Corvus corone</i>
DQ411035	Ast02-2-692	Россия, n/a	Комары <i>Anopheles messeae</i>

Продолжение приложения 2.2.1.

Коды доступа	Штаммы и изоляты	Место и год выделения	Источник выделения
DQ411034	Ast02-2-691	Россия, n/a	Комары <i>Anopheles messeae</i>
DQ411033	Ast02-3-165	Россия, n/a	Баклан <i>Phalacrocorax carbo</i>
DQ411032	Ast02-3-146	Россия, n/a	Сизый голубь <i>Columba livia</i>
DQ411031	Ast01-187	Россия, n/a	Черная ворона <i>Corvus corone</i>
DQ411030	Ast01-182	Россия, n/a	<i>Hyalomma marginatum</i>
DQ411029	Ast01-66	Россия, n/a	<i>Phalacrocorax carbo</i>
DQ374653	Ast02-2-25	Россия, n/a	Черная ворона <i>Corvus corone</i>
DQ374651	Ast02-3-570	Россия, n/a	Сорока <i>Pica pica</i>
DQ374650	Ast02-3-717	Россия, n/a	Баклан <i>Phalacrocorax carbo (L.)</i>
JX070655	T-1304	Таджикистан, n/a	n/a

Глава 2.3. Вирусы серогруппы калифорнийского энцефалита (СКаЭ).

Общая характеристика

Вирусы серогруппы КаЭ (СКаЭ) имеют широкое циркумполярное распространение в северном полушарии, экологически связаны преимущественно с кровососущими комарами родов *Aedes* и *Ochlerotatus*. Комары являются не только переносчиками, но и основными хозяевами данных вирусов. В Северной Америке периодически вызывают тяжелые заболевания с поражением нервной системы (вирус Ла-Кросс). На территории России преобладают гриппоподобные формы заболевания людей (Колобухина и др, 1998) без поражения нервной системы. Случаи заболевания с поражениями ЦНС чаще ассоциированы с вирусом Инко.

Из семи вирусов, входящих в данную серогруппу (антигенный комплекс «Калифорния», р. Ортобуньявирус (*Orthobunyavirus*), сем. Буньявирида (*Bunyaviridae*), на территории России (в т.ч. – в Западной Сибири) имеют широкое распространение три представителя – вирусы Инко (INKV – Inkoo), Зайца-беляка (SSHV – snowshoe hare) и Тягиня (TANV – Tahyna). Род Ортобуньявирус – один из пяти родов семейства – включает 147 вирусов, сгруппированных в 13 антигенных групп. Большинство представителей данного рода – типичные арбовирусы, экологически связанные с комарами. Геном представляет собой сегментированную (три сегмента: L – большой, M – средний, S – малый) одноцепочечную РНК негативной полярности. В составе нуклеокапсида РНК находится в кольцевой (замкнутой) форме. Вирион сферической формы имеет липидную оболочку, в которую интегрированы поверхностные белки. Нуклеокапсид образован N-белком. Концевые последовательности сегментов консервативны и родоспецифичны. Каждый сегмент кодирует свой набор белков (L – вирусную полимеразу (L), M – два поверхностных (G1 (= Gn) и G2 (= Gc)) и один неструктурный белок, S – капсидный (N) и неструктурный белки). Области трансляции сегментов генома в клетке разделены. При трансляции среднего (M) сегмента образуется белок-

предшественник, подвергающийся последующему протеолитическому нарезанию (Мед вирусология, 2008). В связи с особенностями организации генома для вирусов данного рода характерен феномен реассортации малого и среднего сегментов генома (в случае микст-инфицирования членистоногих или теплокровных близкородственными вирусами), что, в ряде случаев, приводит к образованию жизнеспособных реассортантов. Наличие подобных вариантов вирусов в природных очагах затрудняет в ряде случаев их точную видовую дифференциацию.

Географическое распространение и эпизоотические связи вирусов серогруппы калифорнийского энцефалита в Западной Сибири

Вирусы данной серогруппы широко распространены в пределах всей территории Западной Сибири, от субарктики до степной зоны. Спектр циркулирующих видов вирусов и структура очаговых биоценозов изменяется с продвижением с севера на юг региона.

Тюменская обл. (включая территории ЯНАО и ХМАО). Штаммы вирусов СКaЭ изолированы от кровососущих комаров рр. *Aedes* и *Ochlerotatus* (Львов и др., 1997) в тундре, лесотундре и северной тайге ЯНАО, таежной зоне ХМАО, лесной зоне Тюменской обл. В тундре и лесотундре доминирует вирус Инко, южнее – вирус ЗБ. Повсеместно присутствует большое число изолятов с неустановленной видовой принадлежностью (вирусы СКaЭ), что связано, по-видимому с высокой частотой реассортаций гомологичными фрагментами геномов при микст-инфицировании двумя (тремя) вирусами восприимчивых животных. Изоляция штаммов вирусов СКaЭ (включая определенные до вида) как правило осуществлялась из пулов, содержащих несколько видов комаров. Моновидовые пробы комаров, из которых изолированы вирусы СКaЭ, было представлены следующими видами: *Ae. vexans vexans*, *Ochlerotatus communis*, *Och. excrucians*, *Och. cantans*, *Och. flavescens*, *Och. punctor*, *Och. cataphylla*, *Och. hexodontus* и *Och. euedes*. В поливидовые

пробы, из которых изолированы штаммы вирусов СКаЭ, кроме данных видов, представленных в образцах в разном количестве и сочетании, входили *Aedes cinereus*, *Och. cyprius*, *Och. nigripes*, *Och. caspius*, *Och. intrudens*, *Och. riparius* и *Ocl. mercurator*.

Омская обл. Штаммы вирусов СКаЭ изолированы из личинок и куколок комаров *Ae. cinereus*, самок *Och. flavescens* и *Co. richiardii* в северной лесостепи Ишим-Иртышского междуречья; от личинок комаров *Ae. cinereus* и *Och. communis* в южной тайге правобережья р. Иртыш. В северной лесостепи природные очаги, ассоциированные с вирусами СКаЭ, тяготеют преимущественно к осоко-кочкарниковым закустаренным болотам, располагающимся часто вокруг пресных озер. Доля инфицированных комаров (по данным пулловых вирусологических исследований) – от 0,06 до 0,45 %, в зависимости от типа местообитаний. В подзоне южной тайги очаги тяготеют к болотам осоковым и осоко-сфагновым (переходного типа, на припойменных территориях таежных рек), покрытым рямовой сосной и березой. Доля инфицированных комаров (в зависимости от типа местообитаний) – от 0,04 до 0,69 %. Наиболее высокие показатели инфицированности комаров отмечены для болот (лесостепных, и переходного типа в таежной зоне). Активная циркуляция вирусов подтверждается применением сентинелей – штаммы вирусов СКаЭ изолированы от белых мышей, использованных в качестве подсадных животных, у которых после контакта с комарами наблюдалась клиническая картина заболевания. Подсадных животных с клинической картиной и наибольшее число изолятов от комаров получено в конце июня-июле, что является косвенным свидетельством напряженности эпизоотического процесса. Для местообитаний иного типа уровень инфицированности комаров всегда был ниже 0,1 %.

Новосибирская обл. Штаммы вирусов СКаЭ изолированы из самок комаров *Och. flavescens* в Барабинской лесостепи.

Алтайский Край. Штаммы вирусов Тягиня, Инко, ЗБ и без установленной видовой принадлежности (вирусы СКаЭ) изолированы в лесостепи и степи Алтайского Края (Львов и др., 1997). Для данной же территории отмечен высокий уровень инфицированности комаров вирусами данной группы (около

0,1 %), что почти втрое превышает уровень, зарегистрированный в лесотундре, и 5–10 раз – в различных ландшафтных зонах Тюменской области и ХМАО-Югра.

Респ. Алтай. Штаммы вирусов СКаЭ изолированы из самок комаров *Ae. gr. communis*, отловленных на припойменных заболоченных участках р. Катунь выше Горно-Алтайска. Доля инфицированных комаров составила 0,22 %.

Все изоляты вирусов СКаЭ были получены от кровососущих комаров, и по результатам исследований в РСК и ИФА обнаруживали антигенные связи с вирусами Инко и Зайца Беляка. За весь период исследований (1988–1995 гг.) на территории Омской и Новосибирской областей не удалось получить изоляты вирусов СКаЭ от позвоночных – млекопитающих (грызунов, зайцеобразных) и птиц, отловленных в тех группах местообитаний, где отлавливались вирусофорные комары. Учитывая то обстоятельство, что инфекции, вызываемые вирусами СКаЭ, являются зоонозными (что соответствует результатам экспериментов с подсадными животными (сентинелями)), есть основание говорить об abortивном течении инфекции с коротким периодом вирусемии у большинства видов грызунов и насекомых из состава фауны млекопитающих природных очагов данных инфекций.

Заболеваемость

Все зарегистрированные в Центральной России случаи заболевания, ассоциированные с вирусами СКаЭ, связаны с посещением людьми в летний период лесных территорий, где они подвергались нападению кровососущих комаров. Обследование больных в РФ с сезонными, приходящимися на летне-осенний период, лихорадочными заболеваниями и острыми нейроинфекциями, в период 1986–1991 гг., показало наличие около 8 % случаев, этиологическая роль в возникновении которых принадлежит вирусам СКаЭ (Демихов, Чайцев, 1995; Демихов, 1995). В Центральном регионе в разные годы эти цифры варьировали от 5,7 до 12,1 %.

На территории Западной Сибири (Бусыгин и др., 1996) значение вирусов СКаЭ в краевой инфекционной патологии населения показана для Курганской, Омской и Новосибирской областей. Так в Новосибирской области антитела к вирусам

данной серогруппы обнаружены у 11,8 % больных лихорадкой неясной этиологии, что в целом соответствует полученным ранее (Лебедев, Бусыгин, 1974) данным по Омской области (2,4–5,5 %). У двух (из 83) больных из Курганской области показана этиологическая связь заболевания с вирусами СКаЭ.

Клиническая картина заболевания у лабораторных животных

К вирусам серогруппы КаЭ (СКаЭ) высоковосприимчивыми и высокочувствительными являются новорожденные белые мыши (НБМ) в возрасте до трех суток. Для клинической картины заболевания НБМ, ассоциированного с данной группой вирусов, характерен (как правило) короткий инкубационный (до трех суток) период, и быстрое нарастание клинических проявлений и гибель животных. Так, между внешним отсутствием клинических признаков и полной гибелью животных может пройти 1,5–2 часа. При этом сосунки остаются в гнезде, кожные покровы приобретают синюшность, что свидетельствует о поражении вирусом дыхательного центра. В практике работы по изоляции вирусов СКаЭ можно использовать неполовозрелых беспородных белых мышей с предварительным подавлением иммунной системы (примерно за 4 часа до заражения) иммунодепрессантами (применяли раствор гидрокортизона). Инкубационный период – 2–4 дня, иногда дольше. У животных развивается энцефалит с парезами конечностей, сопровождающийся т.н. синдромом «верблюжьего горба», что отличает от клинической картины, вызываемой другими арбовирусами.

Таким образом, несмотря на достаточно проведенное обширное (в географическом аспекте) обследование территории региона, информация по данной группе вирусов остается достаточно скудной. В частности, не решена проблема видовой дифференциации вирусов, что, отчасти, связано с феноменом межвидовой реассортации. Наблюдаемая в Евразии заболеваемость населения характеризуется невысокими показателями и, по-видимому, клиническим течением легкой тяжести, что значительно отличает эпидемические проявления данной инфекции от северо-американского континента.

Раздел 3. Особенности изменчивости геномов флавивирусов и проблема эволюции вирусов (информационные и биологические аспекты)

Введение

Вопросы видового статуса и эволюционного происхождения некоторых флавивирусов (например, клещевого энцефалита и ОГЛ) не всегда могут быть разрешены с помощью стандартных серологических методов из-за высокого антигенного сходства у этих вирусов. Это создает проблемы как при решении практических задач дифференциальной диагностики в зоне перекрытия ареалов возбудителей (Калмин, 1995; Якименко и др., 2007), так и при исследовании филогенетической истории вирусов. Поэтому требуется более широкое привлечение различных методов из области молекулярной биологии и биоинформатики, которые позволяют использовать и анализировать информацию, заключенную в геноме вирусов для решения практических и теоретических задач такого рода. Обычно предполагают, что изменчивость генома вирусной популяции отражает разнородные влияния, которым подвергается популяция в процессе эволюции в пределах своей экологической ниши или при выходе из нее.

Экологические ниши вирусов являются сложными комплексами разнородных компонентов, включающими структуры с разным уровнем организации – клетки, организмы и популяции хозяев, а также внешняя среда обитания, которая может влиять на вирусы непосредственно или путем влияния на их хозяев. Вследствие этого в различных источниках (Вотьяков и др., 2002; Руководство по вирусологии, 2013; Цилинский, 1988) неоднократно указывалось на многообразие и иерархичность факторов, оказывающих влияние на эволюцию вирусных популяций:

- долговременное приспособительное взаимодействие вирусов с популяциями хозяев;
- возможное периодическое включение в жизненный цикл вирусов различных хозяев с необходимостью для вируса приспособляться к новым группам организмов, например, как в случае арбовирусов – круговорот между членистоногими и позвоночными;

- взаимодействие вируса с конкретным организмом хозяина и влияние особенностей его иммунного ответа на микроэволюцию и выживание развивающихся в нем вирусных субпопуляций;
- различающиеся условия для репликации вируса в различных тканях организма-хозяина;
- особенности взаимодействия вирусных геновариантов, относящихся к одному генотипу, с клетками хозяина и между собой;
- ограничения внутривидовой изменчивости, заложенные в строении белков, ДНК и РНК вирусов, что определяет степень влияния всех вышеперечисленных факторов. Их преодоление может способствовать процессу видообразования.

В соответствии с такой схемой о тенденциях в вирусной эволюции обычно судят по результатам эпидемиологических, клинических и молекулярно-генетических исследований, причем последнее направление получает приоритетное развитие.

Однако даже широкое привлечение молекулярно-генетических методов зачастую не дает однозначного объяснения филогенетической истории изучаемых вирусов. Примером этого служат противоречивые гипотезы о датировке времени возникновения ВКЭ и направлении его распространения. В качестве места происхождения вируса упоминаются: Западная Сибирь (Heinze et al., 2012), Европа (Subbotina, Loktev, 2012) и Дальний Восток (Zanotto et al., 1995) из которых вирус, возникнув, должен был распространиться до границ современного ареала. Датировки времени происхождения ВКЭ также различаются очень значительно от 600 лет до 5 тысяч лет (см. ниже, Табл. 3.1.). И это свидетельствует как о неполноте исходных данных, так и о несоответствии используемых моделей или их параметров реальной эволюции ВКЭ. Поэтому, для улучшения и модификации имеющихся моделей эволюции или создания новых, необходимыми становятся статистическая обработка и анализ постоянно пополняющихся молекулярно-генетических данных, получаемых при полногеномном секвенировании вирусных последовательностей.

Сегодня, при изучении геномов различных организмов, все больше расширяется тенденция рассматривать их, как статистические ансамбли более менее консервативных доменов (генов и их комплексов), подчиняющихся универсальным

статистическим закономерностям и распределениям, конкретные параметры которых определяются в каждом рассматриваемом случае анализом их транскриптомов, протеомов и метаболомов (Колчанов и др., 2000; Greenbaum et al., 2014; Koonin et al., 2006; Sella et al., 2005). Эффективные методы анализа и различные механизмы моделирования подобных систем относительно успешно разрабатываются в физике, теории информации и генетике с двадцатого века и по сегодняшний день (Свирижев и др., 1982; Domingo et al., 1998; Karev, et al., 2002; Lobkovsky, et al., 2013). Главной трудностью их применения является неполная информация о реальных параметрах и ограничениях анализируемой биологической системы. Однако, накопление точных данных о реализующихся вариациях в генетических последовательностях, особенностях генетической экспрессии, ДНК-, РНК- и белок-белковых взаимодействиях делает такой анализ все более возможным и осуществимым.

Эволюция организмов всегда тесно связана с особенностями механизмов репликации их наследственного материала и ограничениями различной природы, препятствующими его изменению (Simmonds et al., 1999). Наибольшее число ограничений имеют последовательности, кодирующие белки и структурные РНК (Pfafferott et al., 2011), у вирусов это более 90 % генома. Поэтому, при построении геномных ландшафтов (распределения ограничений по всем частям генома), вирусы занимают «высокогорные плато» – области, в которых наблюдается наибольшее количество существенных ограничений для геномных последовательностей как кодирующих, так и не кодирующих (Koonin et al., 2010). Считается, что скорость эволюции гена определяется размером его «почти нейтральной сети» (множества последовательностей с высокой приспособленностью, получаемых друг от друга в результате одношаговых мутаций) – чем больше такая сеть, тем быстрее ген может эволюционировать (Wagner et al., 2008; Wolf et al., 2010). Однако в случае вирусов из-за жестких ограничений для изменения многих участков геномной последовательности их «почти нейтральная сеть» оказывается значительно меньше, чем можно было предполагать, основываясь на размере генома. Поэтому, уточнение имеющихся ограничений и реальных размеров «почти

нейтральной сети» для вирусных генов, может помочь при оценке скорости эволюции конкретной группы вирусов и сделать предположения о ее возможном направлении.

Требуется учитывать ограничения, накладываемые необходимостью сохранять определенные вторичную и третичную структуры РНК (в случае РНК-вирусов), которые должны обеспечивать успешное взаимодействие с клеткой и иммунной системой хозяина, а также с собственными вирусными белками в процессе самосборки вирусной частицы (Le Breton et al., 2011; Jiang et al., 2012; Murray et al., 2008). Одним из главных факторов отбора в эволюции любого белка считается его устойчивость к неправильной укладке (Drummond et al., 2009). Это показано как на отдельных примерах, так и путем статистических расчетов, позволяющих считать, что эволюция белков в большей степени определяется общими принципами структуры и укладки белка, чем его специфическими биологическими функциями (Lobkovsky et al., 2010; Wolf et al., 2010; Wylie et al., 2011).

Такой большой комплекс разнородных ограничений превращает вирусный геном в сложную информационную систему с множественными обратными связями, процесс функционирования которой отражается в микроэволюции генетических последовательностей вирусов. При этом важно отметить, что даже при большом сходстве в строении геномов вирусов одного семейства и рода, отдельные его представители, используя различные комплексы ограничений, связанные со структурой РНК, могут реализовывать неодинаковые эволюционные сценарии, как при взаимодействии с хозяевами, так и в процессе формообразования (Тюлько, Якименко, 2009). Эволюционные режимы могут сильно различаться даже в случае очень близких таксонов (Тюлько, Якименко, 2009; Marin et al., 1995). И наоборот, реализация одинаковых по механизму действия ограничений, может привести к появлению общих закономерностей в эволюции разных родов вирусов. Для выявления таких закономерностей требуется исследовать особенности изменчивости генома различных вирусов именно в сравнении друг с другом. В русле этой тенденции происходит бурное развитие многочисленных метагеномных проектов, которые были недавно реализованы или реализуются в настоящее время и приносят интересные результаты (Edwards et al., 2005; Greenbaum et al., 2014).

В отношении большинства флавивирусов процесс сравнительного изучения только начинается (Belalov et al., 2013; Schubert et al., 2010), что до недавнего времени было связано с ограниченным количеством полногеномных вирусных последовательностей в банках данных. Однако с каждым годом эта проблема становится все менее существенной. Например, на май 2014 года в банках генетических данных содержалось уже 1136 кодирующих последовательностей вируса Западного Нила длиной более 9000 нуклеотидов, не считая более коротких фрагментов. Значительный рост, количества данных подталкивает к проведению исследований изменчивости различных вирусных геномов для последующего их сравнения и анализа результатов с привлечением ранее полученных сведений о строении вирусных белков, РНК и оценок скорости эволюции вирусов.

Методы, используемые для комплексного анализа изменчивости последовательностей РНК должны быть пригодны для работы с большим объемом данных и выявлять общие информационные закономерности, характерные для РНК-вирусов.

Нами были проанализированы все (по состоянию банка EMBL на 2016 год) нуклеотидные последовательности ВКЭ с длиной > 9000 оснований и некоторые последовательности ВКЭ с длиной > 1000 нуклеотидов для уточнения их филогенетических отношений, а также полногеномные последовательности некоторых других флавивирусов различных генотипов.

Для выравнивания последовательностей и расчета филогенетических деревьев, применялась программа Clustal X (1.8), в которой использовались методы: множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей (Multiple Alignments) со значениями параметров GAP OPENING=20, DELAY DIVERGENT SEQUENCES=30%, TRANSITION WEIGHT=0.6; расчет филогенетических деревьев (BOOTSTRAP N-J TREE), при значении параметра bootstrap replicates ≥ 1000 . Использован метод присоединения соседей (Neighbour Joining).

Для обнаружения корреляций при возникновении нуклеотидных замен в первичных последовательностях генома был использован метод выявления связанных изменений в символьных

последовательностях, основанный на подсчете взаимной информации (Тюлько, Якименко, 2003; Тюлько, Якименко, 2008). Для этого в массивах выровненных гомологичных нуклеотидных последовательностей геномов различных изолятов флавивирусов сравнивались столбцы с разными координатами, отсчитываемыми от первого нуклеотида в кодирующей части последовательности (рис. 3.1). Каждый выделенный таким образом столбец представляет собой символьную последовательность, которую можно сравнить с другими. В качестве меры подобия таких символьных последовательностей (столбцов) использовалось значение взаимной информации – MJ. Удвоенное значение MJ распределено как случайная величина χ^2 , поэтому можно оценить вероятность случайной взаимосвязи двух последовательностей в одном испытании и выбрать значение минимального уровня взаимной информации MJ_{\min} , определяемое количеством выровненных последовательностей (длиной столбцов) и обеспечивающее обнаружение статистически значимой взаимосвязи символьных последовательностей, с вероятностью ошибки $p < 0.05$ (Кульбак, 1967). В итоге, для анализируемого массива выровненных последовательностей рассчитывается набор значений MJ_{ij} (i, j – координаты первого и второго из пары сравниваемых столбцов), характеризующий возможную связь между заменами нуклеотидов в каждой позиции, с заменами во всех других позициях последовательности. При изучении систем кодирования в геномах вирусов, из выборки исключались последовательности, содержащие коды IUPAC, предполагающие неоднозначное кодирование.

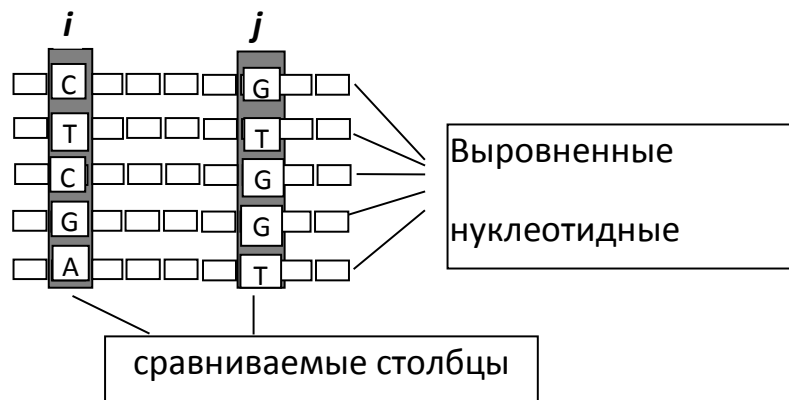


Рисунок 3.1 Схема подсчета значений MJ_{ij} в массиве выровненных нуклеотидных последовательностей

Для всех кодирующих последовательностей из выборки рассчитывались также показатели относительного использования синонимичных кодонов, обозначаемые аббревиатурой $RSCU_k$ (Relative Synonymous Codon Usage), для каждого кодона k (стоп кодоны и кодоны, кодирующиеся только одним триплетом, не рассматривались). Показатель $RSCU_k$ обычно применяют для проведения корректных сравнений частот использования синонимичных кодонов в различных сериях (Бутвиловский и др.; Perriere et al., 2002; Sharp et al., 1986; Qian et al., 2012). Он помогает оценить неслучайность появления конкретного кодона k при кодировании аминокислоты, а также сравнить схемы кодирования в разных генах. Большие значения $RSCU_k$ соответствуют более частому использованию кодона.

Расчет значений $RSCU_k$ для каждой изучаемой последовательности поддерживается различными видами программного обеспечения, например:

RescueNet (The Relative Synonymous Codon Usage Neural Network) – свободно распространяющееся программное обеспечение (<http://bioinf.nuigalway.ie/RescueNet>):

- Mega 4.0.1 позволяет рассчитать значения $RSCU_k$, как для отдельной последовательности так и по результатам анализа массива последовательностей.

- seqinr (Biological Sequences Retrieval and Analysis) – свободно распространяющееся программное обеспечение (<http://seqinr.r-forge.r-project.org/>), является дополнительно устанавливаемым пакетом системы статистического анализа данных R.

После анализа формирует файл с рассчитанными значениями $RSCU_k$ ($k=1, 2, \dots, 59$) для каждой последовательности.

В нашей работе показатели $RSCU_k$ были получены, с помощью программ, выводящих результат в удобном для дальнейшей обработке формате, которые были созданы на базе пакета статистического анализа R. Корректность работы, этих программ протестирована при сравнении получаемых результатов с результатами работы Mega 4.0.1.

Далее, значения показателей $RSCU_k$ для всех типов кодонов нуклеотидной последовательности каждого вируса сравнивалась с аналогичными значениями с помощью модулей

«Групповой анализ» (cluster analysis) и «Общее модели дискриминантного анализа» (general discriminant analysis) программы STATISTICA 6.

В ряду других частотных характеристик вирусных геномов, рассматривалось смещение нуклеотидного состава, например CG – содержание, как суммарное, так и в отдельных позициях кодона (Лукашев, 2009; Moosavi et al., 2011; Perriere et al., 2002). GC-смещение в третьей позиции кодона обычно объясняют предположительным действием отбора на уровне нуклеотидной последовательности в направлении к большей термодинамической стабильности молекулы (Лукашев, 2009; Schubert et al., 2010). Смещение в пользу CG-содержащих кодонов было показано для флавивирусов, в том числе и ВКЭ (Лукашев, 2009; Belalov et al., 2013; Moosavi et al., 2011; Schubert et al., 2010), что свидетельствует о наличии определенного отбора и существовании некой стратегии в использовании синонимичных кодонов.

В общем случае использование кодонов не является случайным (Лукашев, 2009; Shah et al., 2011; Wong et al., 2010). Это явление, проявляющееся на уровне синонимичных замен, обычно называют смещением в использовании кодонов (codon usage bias – CUB). Главными эволюционными факторами, приводящими к возникновению CUB, считаются: смещение в нуклеотидном составе последовательности (возникающее по многим причинам) и предпочтение некоторых кодонов, связанное с различиями во внутриклеточном содержании транспортных РНК (тРНК), специфичных для этих кодонов (трансляционным смещением) (Лукашев, 2009; Cardinale et al., 2013; Qian et al., 2012). Анализ GC-смещения и CUB проводился с использованием пакета анализа UGENE.

Проблемы построения вирусных филогений и эволюционных моделей

Считается, что филогенетический анализ позволяет реконструировать эволюционную историю живых организмов по их геному. В результате анализа обычно получают филогенетическое

дерево, форма, расположение и длина ветвей которого, отражают эволюционную историю сравниваемых организмов (Лукашев, 2009; Nei, Kumar, 2000; Weidmann et al., 2011; Wolf, 2006). Первой трудностью этого подхода является то, что филогенетические деревья, построенные для одних и тех же организмов при анализе различных участков генома, иногда отличаются и имеют разную топологию (Лукашев, 2009; Uzcategui, et al., 2012). Это может быть как результатом разной эволюционной истории этих участков (при наличии рекомбинации, реассортации, горизонтального переноса генов или различной скорости их эволюции), так и результатом различий в филогенетических методах, использованных при анализе генетических последовательностей (Wagner, 2008). Для разрешения такого рода противоречий при условии корректного применения филогенетических моделей обычно применяют либо построение филогенетических сетей (Huson, Bryant, 2006), либо подходы, основанные на согласовании деревьев (Вьюгин и др., 2002).

Для вирусов с несегментированным геномом и ограниченными возможностями к независимой эволюции его отдельных частей, наиболее актуальной является проблема выбора подходящего филогенетического метода, основанного на модели, соответствующей реальной эволюции вируса. Лучшей при этом, обычно считается та эволюционная модель, у которой расчетные дистанции близки к истинным эволюционным дистанциям (Лукашев, 2009; Huson, Bryant, 2006). Оптимальный выбор модели можно осуществить при наличии достоверной датировки эволюционных событий, что у вирусов довольно затруднительно. В качестве исключения можно рассматривать историю распространения ВИЧ, которая хорошо прослежена и документирована (Kuiken et al., 1996; Op de Coul et al., 2001). В остальных случаях возникает много вопросов о достоверности филогенетических датировок и плохо разрешимых противоречий в полученных эволюционных картинах для одного и того же вируса (Heinze et al., 2012; Kovalev, S.Y., 2009; Subbotina, Loktev, 2012; Zanutto et al., 1995; Uzcategui, et al., 2012). Причиной этого может служить ограниченность базовой концепции проводимого филогенетического анализа. Чаще всего, в основе построения

филогений и при осуществлении датировки используется концепция молекулярных часов. В последнее время появился ряд исследований, в которых интенсивно обсуждаются как правомерность использования концепции молекулярных часов для РНК-вирусов в целом (Jenkins et al., 2002; Holmes, 2003), так и границы ее применимости в случае флавивирусов (Uzcategui, et al., 2012).

Области применимости концепции молекулярных часов

Когда известна скорость накопления замен в геноме, то для датировки эволюционных событий, обычно используют концепцию «молекулярных часов». Однако, если модель молекулярных часов не соблюдается, метод UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) и некоторые другие филогенетические методы, например методы максимальной экономии (Felsenstein, 1978; Felsenstein, 2004; Schulmeister, 2004) дают ошибки в топологии дерева.

Датирование эволюционных событий по эпидемиологическим данным также может быть затруднено из-за циркуляции сохраняющихся вариантов вируса, близких к установленным предковым формам, как это было показано даже для такого изменчивого вируса как ВИЧ (Lukashov, Goldsmith, 2002).

Использование модели молекулярных часов дает достоверные результаты при условии постоянства скорости эволюции во всех ветвях рассчитываемого дерева, которое в таком случае обычно имеет «звездообразную» форму (ветви дерева почкуются почти из одной и той же точки) и одинаковую среднюю скорость накопления нуклеотидных замен во всех частях генома (Kimura, 1983). Например, в случае эволюционной радиации или эпидемии, вызванной изменчивым вирусом. При наличии дерева с другой топологией, применимость модели молекулярных часов может быть оспорена. Такие деревья могут появляться, если в эволюционной истории обширной вирусной популяции наблюдались, как периоды быстрого эпидемического распространения, так и периоды относительной консервации генома (Лукашев, 2009; Gibbs, 1987).

Другой ситуацией, когда концепция молекулярных часов может быть ошибочно отвергнута, является случай быстро эволюционирующих РНК-вирусов, если в сравнении используются генетические последовательности, полученные не одновременно, а с большим временным интервалом между моментами их консервации, что также было показано на примере вируса ВИЧ (Liu et al., 2004).

Наличие рекомбинации (которое достоверно установлено не у всех флавивирусов (Scheel, et al., 2013; Bertrand et al., 2012; McGee, et al., 2011; Pickett, Lefkowitz, 2009; Worobey et al., 2002)), иногда может приводить к неправильному выводу о несоблюдении модели молекулярных часов (Posada, 2001; Schierup, Hein, 2000). Поэтому, теоретически, выявление наличия рекомбинации должно проводиться заранее, до анализа состоятельности модели молекулярных часов (Лукашев, 2009; Posada, 2001), что не всегда возможно из-за ограниченности выборки полноразмерных геномных последовательностей, среди которых могут отсутствовать предковые, участвовавшие в рекомбинации.

В некоторых случаях, концепцию молекулярных часов применяют при не одинаковой, но постоянной скорости накопления замен в ветвях дерева, учитывая данные об имеющихся различиях. Для этого используются различные варианты модели «ослабленных часов» (relaxed clock), которые сводятся к исключению из рассмотрения ветвей дерева с отличающейся скоростью накопления замен (Drummond, 2003) или к разделению ветвей дерева на классы с разной скоростью накопления замен (Huelsbeck et al., 2000).

Если есть основания считать скорость накопления замен непостоянной, что в случае вирусов может происходить, например, при переключении с одного хозяина на другого и интенсивном накоплении компенсаторных замен, то использование концепции молекулярных часов становится затруднительным.

В целом же, вопрос о постоянстве темпа молекулярной эволюции считается нерешенной проблемой в настоящее время.

Анализ многолетних данных по изменчивости генома флавивирусов

Определить местоположение конкретного вирусного варианта на временной шкале в случае больших временных интервалов возможно только в редких случаях удачных палеонтологических и археологических находок с высокой сохранностью биоматериалов (Holmes, 2014). Поэтому датировку филогенетических построений для вирусов обычно делают по косвенным свидетельствам эволюционных событий, основанным на дополнительных данных о времени расхождения, изоляции или проникновения вирусов в новый ареал обитания, что неизбежно порождает расхождения в оценке скоростей эволюции (Jenkins et al., 2002; Kovalev, et al., 2009; Uzcategui, et al., 2012). Кроме того, оценивая скорость эволюционных процессов для вирусов, полученных из разных географических очагов, нужно учитывать, что определенное влияние на пространственное распространение могут оказывать неизвестные антропогенные и географические факторы, которые не позволяют однозначно соотнести расстояние между местами изоляции и временем распространения/эволюции вируса (Kovalev, et al., 2009; Weidmann, et al., 2011).

Датировку затрудняет также возможность длительного сохранения мало изменяющейся вирусной популяции. В пользу такой возможности свидетельствуют результаты лабораторных опытов с некоторыми РНК-вирусами (Domingo et al., 1978) показывающие, что при пассировании вируса, нелетальные мутации, случайным образом внесенные в геном, исчезают уже через 10-20 поколений приспособительного отбора. Из этого было сделано заключение, что вирусная популяция может находиться в стабильном динамическом равновесии, при котором наиболее жизнеспособные варианты сохраняются длительное время, а менее приспособленные могут элиминироваться достаточно быстро. Наличие такого очищающего отбора подтверждается также при исследовании изменчивости гена E в природных популяциях ВКЭ (Weidmann, et al., 2011). Однако, при выделении и пассировании вирусов в лабораторных условиях, такие случайные мутации, а также мутации, возникающие при адаптации вируса к лабораторным культурам, могут быть зафиксированы

в процессе секвенирования и исказить расчетные значения эволюционных дистанций, внося дополнительную погрешность.

Поэтому важное значение имеют результаты многолетних наблюдений за микроэволюцией вируса, в идеале полученные в одних и тех же лабораторных условиях из одного и того же источника. К сожалению, такие проекты достаточно сложно организовать, однако в последнее время появляются данные многолетних исследований в которых рассматриваются изоляты ВКЭ, полученные в течение нескольких десятков лет с определенной территории и от ограниченного круга хозяев (Uzcategui et al., 2012; Weidmann et al., 2011;). Эти исследования дают достаточно интересные результаты, например, о связи скорости накопления замен в нуклеотидной последовательности с типом хозяина-переносчика. Для вирусов, переносимых *I. persulcatus*, скорость накопления замен имела меньшие значения, чем для вирусов, переносимых *I. ricinus*, что привело к различиям в датировках момента происхождения сибирского и европейского подтипов (Uzcategui et al., 2012). Очевидно, что это направление должно развиваться в сочетании с постановкой лабораторных экспериментов по адаптации вирусной популяции к различным хозяевам при последовательной фиксации изменений происходящих в геноме вирусов. Необходимо заметить, что развитие этого направления с целью дальнейшего статистического анализа данных, не будет успешным, если при депонировании генетических последовательностей в банках данных, не будет фиксироваться полная информация: о точном месте и времени получения вируса, условиях проведения лабораторных процедур, хранения и пассирования. Для достижения этого необходимо провести работу по стандартизации и согласованию правил кодирования такой информации при составлении описания для банков данных.

Оценка скорости эволюции вирусов

Ключевым моментом при определении скорости эволюции вирусов является корректное определение скоростей возникновения мутаций и средних скоростей накопления синонимичных и несинонимичных нуклеотидных замен (Holmes, 2003) в геноме.

Если определение скоростей возникновения мутаций (как синонимичных так и несинонимичных) возможно при проведении лабораторных экспериментов, то определение средних скоростей накопления замен в геноме на определенном интервале времени всегда связано с величиной анализируемого интервала, так как проявление действия различных механизмов отбора на мутантов может потребовать разного времени для своего осуществления:

- на первом, самом коротком этапе, действует молекулярный механизм, отбирающий вирусы, способные к успешной сборке вирионов;

- далее происходит отбор вирусов, способных взаимодействовать с клеткой и давать потомство;

- идет отбор вирусов, способных противостоять действиям иммунной системы хозяина, направленной на их элиминацию и уничтожение;

- отбор на способность к эффективной передаче другим хозяевам;

- отбор в ходе длительных коэволюционных процессов при взаимодействии с популяцией хозяев.

При анализе всех этих этапов для одних и тех же вирусов могут быть получены разные оценки средних скоростей накопления замен в геноме. На первом этапе можно определить скорость возникновения мутаций. Если рассматриваются относительно короткие временные интервалы, на которых преимущественно осуществляются первые три этапа, то оценки будут наиболее близки к этой скорости. Но при анализе больших временных интервалов, когда проявляются эффекты длительного отбора, оценки средних скоростей накопления замен в геноме принимают намного более низкие значения (до сотен раз). Они могут быть также значительно ниже реальных из-за эффекта насыщения синонимичных замен (т.е. возникновения повторных и возвратных нуклеотидных замен), как это было показано в случае флавивирусов (Holmes, 2003) при анализе эволюционных дистанций, рассчитанных как для несинонимичных, так и для синонимичных замен в сегменте NS5. Возможно, поэтому у разных авторов существует некоторое

расхождение (Табл. 3.1) при определении скоростей накопления замен ВКЭ. И как его следствие – различные мнения при определении эволюционных дистанций.

Таблица 3.1. Значения скоростей накопления замен ВКЭ по разным источникам.

Ген	Замен/сайт/год		Источник
	все	синонимичные	
E	$2,90 \cdot 10^{-4}$		(Hayasaka et al., 1997)
E	$0,12 \cdot 10^{-3}$	$0,41 \cdot 10^{-3}$	(Jenkins et al., 2002)
E		$1,62 \cdot 10^{-4}$	(Suzuki et al., 2007)
E	$8 \cdot 10^{-4}$		(Weidmann et al., 2011)
ORF	$2,66 \cdot 10^{-5} - 5,31 \cdot 10^{-5}$		(Uzcategui et al., 2012)
E	$4,70 \cdot 10^{-6} - 6,51 \cdot 10^{-5}$		

Ограничения, накладываемые структурой вирусного генома.

Уже на ранних этапах изучения геномов бактериофагов была предложена модель модульной эволюции, предполагавшая, что геном вируса – это продукт совместной эволюции набора функционально и генетически взаимозаменяемых модулей (генов, представленных в вирусной популяции большим количеством аллелей), каждый из которых выполняет определенную биологическую функцию. Каждый вирус, выделяемый в природе, таким образом, представляет собой удачную комбинацию связанных между собой модулей, оптимально отобранную в процессе микроэволюции для функционирования в конкретной нише (Botstein, 1980). И при любом изменении условий существования, преимущество, предоставляемое отбором, выражается в увеличении численности той или иной комбинации модулей в вирусной популяции. В настоящее время в свете новых метагеномных проектов эта теория модифицируется и расширяется применительно к вирусам высших организмов

(Diemer, Stedman, 2012; Shackelton, Holmes, 2004). При этом модуль уже понимается не просто как самостоятельная относительно неизменная единица, а скорее как вариант.

Для сегментированных вирусных геномов такое понятие как модуль иногда почти буквально относят к отдельным сегментам, способным к реассортации и кодирующим один ген. Однако для не сегментированных геномов и сегментов, кодирующих несколько генов, это простое представление не применимо. Здесь модулю скорее соответствует отдельный ген, связанный с другими вирусными генами одной рамкой считывания, вторичной структурой РНК или функциональной связью, реализуемой взаимодействием транслируемых с него белков с другими вирусными белками или РНК. Косвенными подтверждениями допустимости такой точки зрения являются:

- сходные функциональные блоки (полимеразы, неструктурные белки), обнаруживаемые в геноме различных вирусов (Gibbs, 1987; Edwards et al., 2005; Greenbaum et al., 2014);

- участие в микроэволюционных процессах дефектных вирусов (Жданов, 1976), которые, по сути, являются группой модулей, извлеченной из полноценного вирусного генома и использующей как воспроизводящую систему клетки, так и недостающие модули полноценного вируса;

- недавний пример эволюционной связи сегментированного генома вируса клещей (Jingmen tick virus) с несегментированным геномом флавивирусов. Два из четырех сегментов его генома содержат последовательности, подобные неструктурным белкам NS3 и NS5 флавивирусов (Qin et al., 2014);

- существование динамического полиморфизма (Цилинский, 1988), когда циклические изменения свойств вирусной популяции при смене членистоногих и теплокровных хозяев, могут быть объяснены изменением численности той или иной комбинации модулей (квазивида) в вирусной популяции.

С этой точки зрения определяющим фактором для возможности эволюционных процессов становится степень влияния связей между модулями на изменчивость генома в целом и возможность их нарушения или изменения без катастрофического понижения жизнеспособности вируса. То, что при произвольном

изменении генетических последовательностей, их приспособленность снижается, было показано в ряде экспериментальных лабораторных исследований (Domingo et al., 1978; Nougairede et al., 2013). Восстановление приспособленности при этом может происходить благодаря отбору компенсаторных мутаций, возникающих в разных частях генома (Nougairede et al., 2013), что свидетельствует о существовании статистически подтверждаемых связей между изменениями в различных генах вируса (Тюлько, Якименко, 2008; 2011).

Возможные механизмы видообразования

Положение о том, что адекватная классификация вирусов и анализ их эволюции возможны только при всестороннем изучении закономерностей структуры вирусного генома, стало основным в последние годы (Вотяков и др., 2002; Лукашев, 2009; Grard et al., 2007; Moureau et al., 2015). Важную роль приобретает как можно более точная оценка основных параметров вирусного генома, которые могут служить факторами, направляющими и ограничивающими эволюцию вирусов: размер генома, нуклеотидный состав, скорость накопления замен, структура РНК, ДНК и белков.

Эволюция вирусов направляется и регулируется многими механизмами, действующими как на популяционном уровне, так и на уровне макромолекул. В последние годы, были обобщены и получены данные как для РНК, так и для ДНК вирусов, показывающие, как имеющиеся разнородные физические и химические ограничения на молекулярном уровне приводят к консервации свойств вируса на популяционном уровне или как при их преодолении эти свойства меняются (Лукашев, 2009; Koonin, Wolf, 2010). В качестве примера такого изменения свойств вируса можно привести исследования эскейп-мутантов вируса гриппа птиц H2N2 (Игнатьева и др, 2015), содержащих компенсаторные мутации, стабилизирующие молекулярную структуру вирусной белковой

субъединицы NA1 с повышением термостабильности вируса, что дает такому мутанту увеличение репродуктивной активности на ранних стадиях инфекции в куриных эмбрионах.

Во многих случаях, механизм, связывающий изменения в параметрах вирусного генома и его фенотипические и популяционные свойства неизвестен. Например, имеются данные, полученные при статистическом анализе различных РНК и ДНК вирусов о том, что размер (объем) вириона определяется главным образом размером его генома (длиной) независимо от генного состава (Cui et al., 2014). При этом есть и результаты моделирующих физико-химических расчетов (Ting et al., 2011; Zandi, van der Schoot, 2009), и лабораторные данные по самосборке вирусных частиц с +РНК, когда при увеличении длины генома происходило соответствующее увеличение капсида (Hu et al. 2008). Все это демонстрирует зависимость размеров формирующихся вирионов, выявленную с помощью стандартных статистических методов, именно от физических размеров генома, а не особенностей его состава. Физико-химическая природа данной закономерности не определена, но подтверждается широким спектром, подчиняющихся ей вирусов с размерами от 10^3 нм³ – у небольших РНК вирусов до 10^7 нм³ – у мимивирусов (Cui et al., 2014). Следовательно, даже небольшое изменение размеров генома, вызвав изменение размеров вириона, может привести, например, к изменению приспособленности вируса и способствовать процессу видообразования.

Такие данные о вариациях параметров генома позволяют понять лишь часть эволюционного процесса – механизмы, причины и ограничения возникающих изменений генома, но не дают сведений о жизнеспособности и судьбе измененных вирусов, которые могут быть получены только при анализе данных о взаимодействии популяции вирусов с клеткой, организмом и популяциями хозяев и переносчиков. Однако выявление статистических закономерностей, связывающих разные параметры генома (длину, нуклеотидный и аминокислотный состав, скорость возникновения

замен в ДНК или РНК, структурную организацию генома) и особенности строения вирусных белков с эволюционными процессами, представляется наиболее перспективным направлением в изучении вирусов.

Для построения эволюционных моделей у вирусов, скорость возникновения замен является ключевым параметром. Ранее было показано, что при различной скорости возникновения замен возможны различные эволюционные сценарии (Тюлько, Якименко, 2010), как приводящие к стабилизации вирусной популяции содержащей несколько геновариантов, так и к вырождению популяции, вызванному быстрыми изменениями в ней. Особенно интересным это представляется с учетом того, что оценки скорости возникновения замен, могут зависеть от временного интервала, для которого производится эта оценка. Было показано, что оценки, полученные для длительных временных интервалов, значительно ниже, чем полученные для коротких временных интервалов, при кратковременном наблюдении и в лабораторных исследованиях (Duchene et al., 2014). Это дает основание для сомнений в правильности многих эволюционных датировок. Этот эффект особенно усиливается при ограниченных размерах генома, когда эффект насыщения при возникновении нуклеотидных и аминокислотных замен становится более значимым. Кроме того, скорость возникновения замен, регистрируемая в лабораторных экспериментах, может не соответствовать скорости характерной для стабильного природного резервуара.

Кроме количества возникающих замен, большую роль для направления эволюционного процесса играет и место их возникновения в геноме при взаимодействии их с разными хозяевами (Вотяков и др., 2002). У вирусов клещевого энцефалита не выявлено строгого соответствия между генотипом вируса и видом хозяина, однако есть данные о возрастании числа замен и не случайности их расположения при переключении с одного хозяина на другого (Вотяков и др., 2002). Подобная ситуация наблюдается и для некоторых других вирусов (Игнатьева и др., 2015), что может предполагать отсутствие

единственного пути адаптации вируса к новому организму-хозяину в случае ограничений размера генома и многовариантность приспособления в ходе параллельной микроэволюции вирусных субпопуляций. Например, в случае парвовируса собаки, имеющего линейный ДНК-геном в икосаэдрическом капсиде и поражающего плотоядных разных видов, мутации при пассировании либо накапливались в участках, отвечающих за связывание с рецепторами клетки нового хозяина, и, видимо, подвергались интенсивному отбору, либо появлялись в небольших количествах при сохранении способности к заражению различных хозяев (Allison et al., 2014). Возможно путь адаптации в разных случаях может быть не одинаков даже для одного и того же вирусного генотипа в одинаковых условиях. В пользу этого свидетельствуют данные об особенностях возникновения компенсаторных мутаций (Nougairède et al., 2013) у вируса Чикунгунья, которые, при их намеренном внесении в геном, обеспечивали возвращение к исходной форме лишь в менее чем 1 % случаев. Поэтому представляется перспективным статистическое определение наиболее вероятных замен при переключении с одного хозяина на другого и выявление связи между такими заменами по мере накопления полноразмерных последовательностей полученных от разных хозяев.

Общая характеристика генома флавивирусов

Флавивирусный вирион (диаметр \approx 40-50 нм) состоит из нуклеокапсида и липопротеиновой оболочки, которая его покрывает. Нуклеокапсид вирусной частицы флавивирусов, включающий в себя капсидный белок С и геномную +РНК, окружен липидной мембраной, в которую включены М (мембранный, 8 кДа) и Е (оболочечный, 50 кДа) белки, как это схематично показано на рисунке 3.2. Эктодомен белка Е – внешняя часть молекулы, стебель-якорный участок молекулы обеспечивает контакт белка с мембраной вириона. Поверхность вирусной частицы образуют эктодомены гликопротеина Е, а белок М находится под ними.

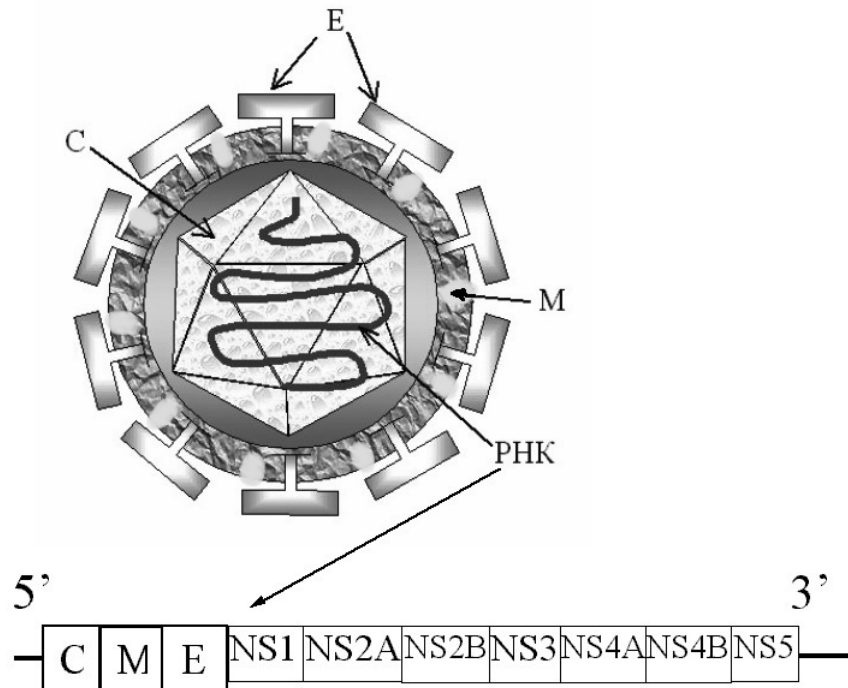


Рисунок 3.2. Строение вириона флавивируса, вдоль горизонтальной оси показан порядок расположения последовательностей кодирующих структурные и неструктурные белки в геномной РНК (цит. по Руководство по вирусологии, 2013).

Геномная РНК флавивирусов является инфекционной (≈ 11 тыс. н.о.), и кодирует три структурных (С, М и Е) и семь неструктурных белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5), последовательно считываемых в единой рамке считывания и необходимых для размножения вируса в клетках хозяина. Репликация геномной РНК происходит в цитоплазме по полуконсервативному механизму, инициация трансляции осуществляется по кэпзависимому механизму (Руководство по вирусологии, 2013). Белок С – основной структурный элемент капсида, М и Е – оболочечные белки, взаимодействующие при сборке вириона (Yoshii et al., 2012), ргМ участвует в начальных этапах фолдинга белка Е (Lorenz et al., 2002). Белок Е отвечает за сборку вириона, слияние мембран и рецепторное связывание (Chambers et al., 1990), а также является мишенью нейтрализующих антител иммунной системы хозяина (Lindenbach et al., 2007). Методом рентгеноструктурного анализа ранее была определена трехмерная структура белка Е (Rey et al., 1995) –

в случае нейтрального значения рН гликопротеин Е представляет собой димер, мономеры которого состоят из трех отдельных доменов. Считается, что мутации, влияющие на патогенность вируса, связаны с изменениями кодирующей последовательности этих трех доменов белка Е (Dunster et.al., 1999; Lorenz et. al., 2002; McMinн et.al., 1995). Традиционно центральный домен белка Е (120 а.к., включающие 3 сегмента 1–51 а.к., 137–189 а.к., 285–302 а.к.) обозначают как домен I. Две вставки между этими тремя сегментами домена I составляют домен II (52–136 а.к., 190–284 а.к.), который вносит основной вклад во взаимодействие мономеров внутри димера белка Е. Домен III (300–395 а.к.) является потенциальным сайтом взаимодействия с рецепторами клетки и соединяется подвижным шарнирным участком с доменом I (Рис.3.3).

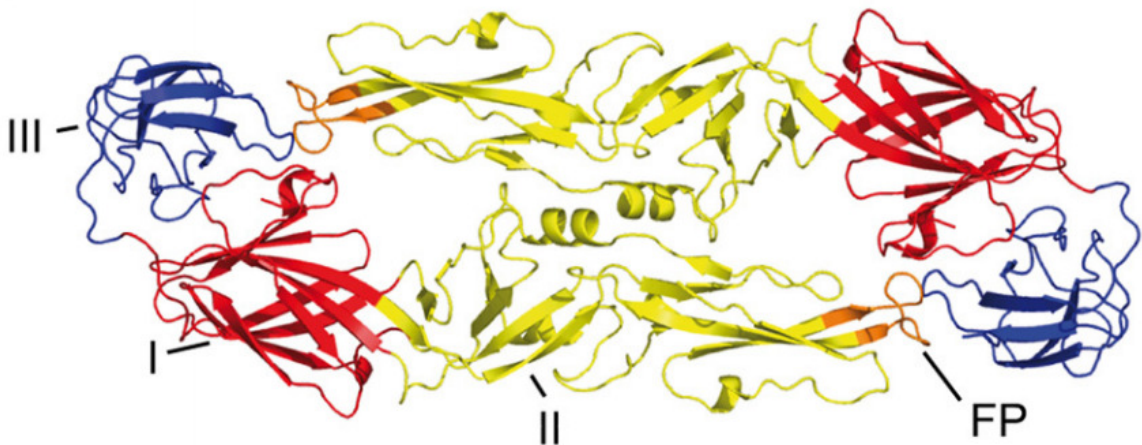


Рисунок 3.3. 1.Схематичное представление структуры димера. Домены выделены цветами I – красный, II – желтый, III – синий, оранжевым обозначен пептид слияния (fusion peptide -FP).

Рисунок приводится по Rey et.al., 1995.

NS2A, NS2B, NS4A и NS4B - низкомолекулярные, гидрофобные белки с протяженными участками остатков незаряженных аминокислот (Grard et. al.,2007; Lindenbach et. al.,1999). Функции этих молекул в развитии вируса в клетках до конца не ясны. Известно, что NS1-обладает регуляторной и ферментативной функцией при формировании вирусного репликативного комплекса, NS2B - NS3 – протеазной и хеликазной активностью, NS5- РНК-зависимая РНК-полимераза (Амосов, 2006;

Беликов и др. 2010, Руководство по вирусологии, 2013). Высокомолекулярные белки NS1, NS3 и NS5 легко обнаруживаются в инфицированных флавивирусами клетках, в сыворотке крови или спинномозговой жидкости больных клещевым энцефалитом (Амосов, 2006).

В 5' и 3' – некодирующих концевых последовательностях, протяженностью около 131 и 518 н.о. соответственно, обрамляющих рамку считывания, содержатся регуляторные элементы РНК, которые, предположительно, участвуют в формировании вторичной структуры РНК и контролируют многочисленные РНК-РНК и РНК-белковые взаимодействия, необходимые для осуществления репликации (Grard et al., 2007; Mandl et al., 2001). Шпильчатая Y-структура РНК в 5' последовательности является промотором вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы флавивирусов, по некоторым данным, ее последовательность и вторичная структура влияют на уровень репликации вируса (Filomatori et al., 2006). Для большинства флавивирусов существует общая схема расположения регуляторных элементов РНК, сохраняющихся вторичных структур РНК, консервативных и вариабельных участков генома (Turner et al., 2004). Известно также, что вторичная структура РНК очень чувствительна к возникновению мутаций (Marin et al., 1995). Эффекты, вызываемые появлением синонимичных и несинонимичных замен, определяются местом их возникновения, которое может соответствовать расположению регуляторных элементов РНК. Поэтому, выявление закономерностей при возникновении таких мутаций и их связи с особенностями строения каждого вируса вызывает большой интерес исследователей и требует применения различных статистических методов (Тюлько, Якименко, 2011). Значимость синонимичных и несинонимичных замен для свойств вируса определяется, как правило, местом их возникновения и наличием или отсутствием компенсаторных замен. Поэтому, при исследовании вирусного генома и оценке его изменчивости следует учитывать не только количество различий между нуклеотидными последовательностями, но и место возникновения мутации, а также наличие возможных связей между отдельными точечными мутациями в разных частях генома, что уже было показано ранее (Lee et al., 1997; Тюлько, Якименко, 2011).

В последнее время в связи с накоплением значительного количества полноразмерных последовательностей многих флавивирусов, активизировались работы по исследованию смещений их нуклеотидного состава (Belalov, Lukashev, 2013; Moosavi et al., 2011), в этих работах было показано повышенное содержание нуклеотидов С и G, которое считается признаком отбора, действующего в пользу термодинамически устойчивых молекул.

Вариабельность нуклеотидных последовательностей геномов некоторых флавивирусов

Род *Flavivirus* включает в себя более 70 представителей (15 антигенных групп), из которых около 50 % передаются комарами (например, вирусы комплекса японского энцефалита, денге, желтой лихорадки), около 30 % – клещами (например, вирусы клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, Повассан), некоторые из них способны использовать в качестве переносчиков как комаров, так и клещей (например, вирус Западного Нила), а некоторые (вирус омской геморрагической лихорадки) – передаваться нетрансмиссивным путем (Руководство по вирусологии, 2013). Такая экологическая пластичность должна обеспечиваться молекулярными механизмами адаптации генома, наличие которых может быть обнаружено при исследовании и сравнении variability генетических последовательностей флавивирусов.

Для ВКЭ характерно существование группировок, стабильных в течение длительного времени. Консервативность антигенной структуры этого вируса очень высока и, следовательно, можно говорить о достаточно медленной эволюции вируса (Карганова, 2011). Вирусы, входящие в комплекс клещевого энцефалита (по ныне действующей классификации – в группу флавивирусов млекопитающих, передаваемых клещами) плохо различаются с помощью обычных серологических тестов (Вотьяков и др., 2002), поэтому особую важность приобретают именно молекулярно-биологические методы, связывающие свойства генетических вариантов вирусов со свойствами вирусных группировок. Как правило, применяя такие методы,

определяют: специфичные молекулярные маркеры, связанные с биологическими механизмами происхождения генотипов (соответствующих – предположительно – различиям видового уровня) и геновариантов (соответствующих внутривидовым – надпопуляционным – различиям) вирусов; закономерности в возникновении мутаций; скорости возникновения мутаций и их накопления в генетических последовательностях.

В ряде работ, посвященных исследованию ВКЭ, были описаны свойства вируса, зависящие от конкретных участков нуклеотидных и аминокислотных последовательностей (Прил. 3.1). Эти примеры, позволяют приблизиться к пониманию того, как вирусный геном реализует свои функции. По мере увеличения количества полноразмерных геномов ВКЭ в банках данных, стали доступны также общие методы статистического анализа вариантов изменчивости генома в целом, выявляющие менее очевидные закономерности. В исследовательской литературе существуют различные мнения о степени изменчивости генома ВКЭ, точных значениях скорости накопления замен (Табл. 3.1) и причин их возникновения в геноме.

Разнородные данные об оценке скорости накопления замен в геноме ВКЭ (см. Табл. 3.1) могут объясняться применением различных оценочных методов, свойствами используемых для анализа наборов последовательностей, и тем, что не учитываются отдельные аспекты изменчивости нуклеотидных последовательностей вирусов, например, явление насыщения нуклеотидных замен (Лукашев, 2009) или ограничения при использовании концепции молекулярных часов (Jenkins et al., 2002; Uzcategui et al., 2012), например, возможное непостоянство скорости накопления замен.

Поэтому по мере накопления данных представляются полезными, как проверка более ранних оценок, так и выявление новой информации. По имеющимся в настоящее время полногеномным последовательностям мы сравнили уровень гомологии в различных частях кодирующих последовательностей ВКЭ (рис. 3.4). Ранее, подобные оценки делались, либо по сравнительно небольшому набору последовательностей, либо вариабельность генов, сравнивалась по наборам отдельных фрагментов РНК, включающих нужные гены (Злобин и др.,

2007), не всегда идентичных по набору последовательностей, что затрудняет сравнение изменчивости отдельных участков вирусной РНК в рамках одной выборки вирусов.

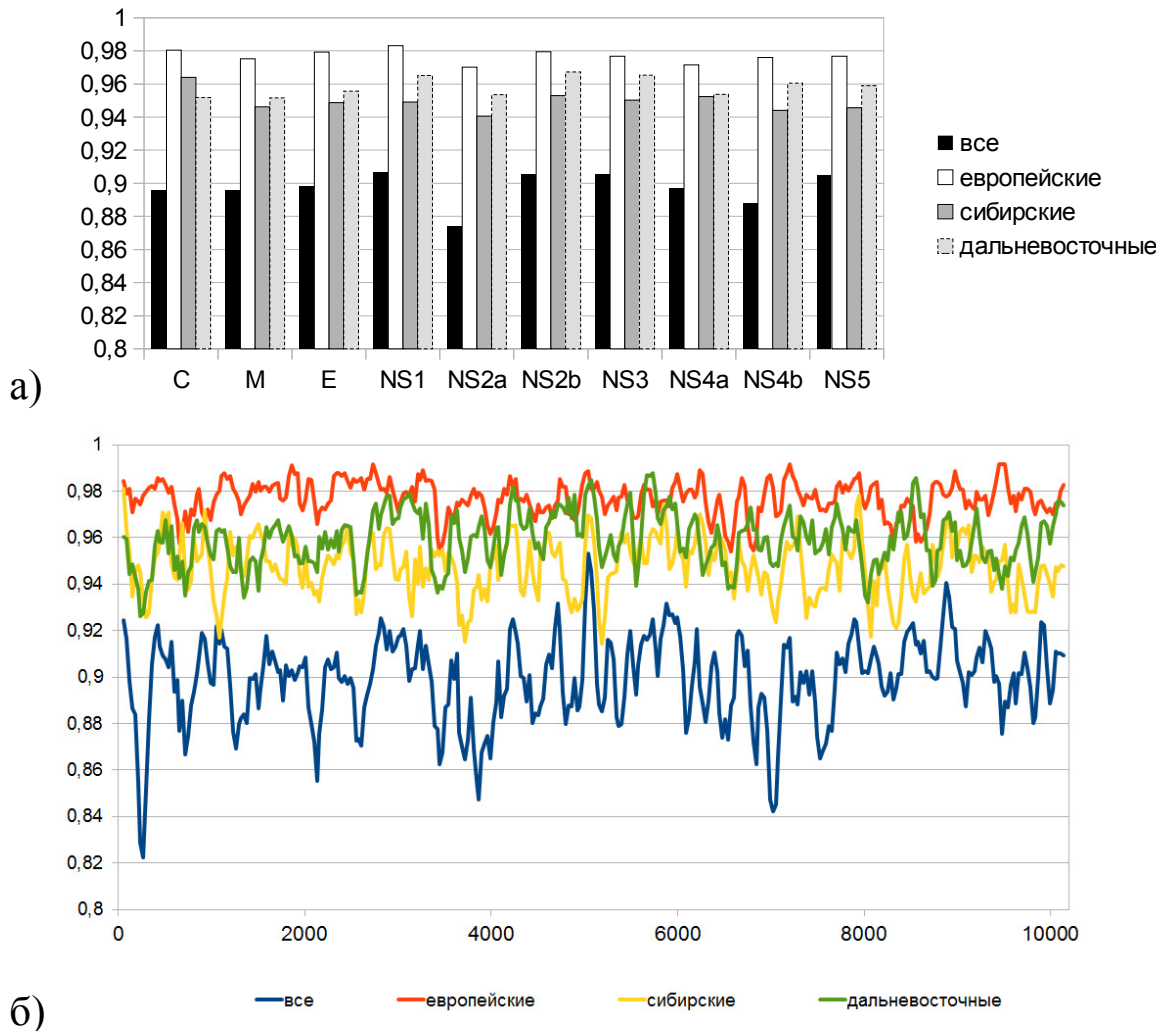


Рисунок 3.4. Среднее значение уровня гомологии, полученное при попарном сравнении нуклеотидных последовательностей ВКЭ длиной >10000 нуклеотидов, вычисленное, как при сравнении между собой вирусов всех генотипов, так и в рамках отдельных генотипов (по вертикали указан уровень гомологии): а) показано среднее значение уровня гомологии, рассчитанное по всем полноразмерным нуклеотидным последовательностям ВКЭ (ряд: «все»), и по полноразмерным нуклеотидным последовательностям трех основных генотипов (ряды: «европейские», «сибирские», «дальневосточные»); по горизонтали – обозначены гены, для которых производился расчет; б) показано изменение среднего значения уровня гомологии при сравнении фрагментов выровненных кодирующих последовательностей, попадающих в скользящее окно шириной 100 н. По горизонтали указана координата начала скользящего окна.

Из проведенного анализа следует, что, как и ожидалось, в пределах каждого генотипа средние уровни гомологии для отдельных генов, не слишком различаются. В то время, как при сравнении последовательностей принадлежащих разным генотипам, необходимо учитывать различия в вариабельности отдельных генов (см. рис. 3.4 а). Кроме того, необходимо с осторожностью использовать короткие фрагменты ($\leq 500-700$ н.) в сравнительном филогенетическом анализе, когда сопоставляются дендрограммы построенные по негомологичным участкам, т.к. уровень гомологии даже в пределах одного гена на коротких участках может различаться на 8–10% (см. рис. 3.4 б). Кроме оценки уровня гомологии, при сравнении двух и более последовательностей определенным интересом представляет систематизация данных о расположении консервативных участков РНК. У флавивирусов, так же как и у других РНК-вирусов, консервативные участки обнаруживаются в различных частях кодирующей последовательности (общая информация о расположении таких участков у ВКЭ, ЯЭ и ЛЗН представлена в Приложении 3.2). Чаще всего их консервативность объясняется либо существованием консервативных аминокислотных мотивов, формируемых общими требованиями отбора к функционированию и сворачиванию белков, либо тем, что они являются единичными вершинами шпилечных структур РНК при формировании вторичной структуры вирусной РНК, выполняющих различные функции в процессах синтеза вирусных белков и самосборки вирусных частиц (Tuplin et al., 2011; Yoshii et al., 2012). Определенным интересом представляет сравнение консервативности таких участков в пределах иерархических групп разного уровня (семейство, подсемейство, род, генотип) и групп вирусов одного генотипа, выделенных от разных хозяев.

С начала изучения структуры геномов штаммов ВКЭ (как, впрочем, и других вирусов) всегда возникал вопрос о селективном воздействии на геном способа изоляции штамма, и соответствие генома полученного изолята геному исходного возбудителя. Было показано, что, несмотря на свою консервативность, ВКЭ (как и многие другие РНК-вирусы) способен быстро изменяться путем возникновения нуклеотидных замен

(как синонимичных, так и несинонимичных) во время пассажей на клеточных культурах и на лабораторных животных (Lee et al., 1997; Mandl et al., 2001). В исследованиях с использованием набора синтетических ДНК-зондов, комплементарных коротким фрагментам вирусной РНК с определенным положением на генетической карте в концевой 5'-области, С-, preM-, M-, E- и NS1-генах ВКЭ штамма Софьин, был сделан вывод, что в ходе многократных, до 15 последовательных интрацеребральных пассажей вируса на новорожденных белых мышах, происходят постепенные изменения в нуклеотидной последовательности вирусного генома. Высокая частота изменений на участках генома, комплементарных генам preM-, M-, С- и NS1. Как установлено в экспериментах с иксодовыми клещами, иногда достаточно одного пассажа вируса через организм членистоногих, чтобы происходили значительные изменения в режиме гибридизации зондов не только с вариабельными, но и с консервативными областями вирусного генома (Амосов, 2006; Якименко и др., 1996).

Возникновение нуклеотидных замен, связанных со структурой молекулы РНК и белков вируса клещевого энцефалита

Анализ доступных в банках данных полноразмерных нуклеотидных последовательностей генома ВКЭ позволил выявить многочисленные значимые корреляции (синонимичные и несинонимичные) при возникновении замен нуклеотидов в различных сайтах генома (более 800 пар связанных замен), подкрепляя данные о существовании сложных взаимодействий между различными участками вирусной РНК, полученные ранее по меньшей выборке (Тюлько, Якименко, 2011). Обнаруженные случаи корреляции распределяются неравномерно вдоль кодирующей последовательности и затрагивают удаленные друг от друга части генома (рис. 3.5). При этом наиболее значимые корреляции (значения $MJ \geq 80$) связывают мутации, расположенные на участках, кодирующих разные гены (21 случай), и только 4 случая – расположенные в пределах одного гена (рис. 3.6).

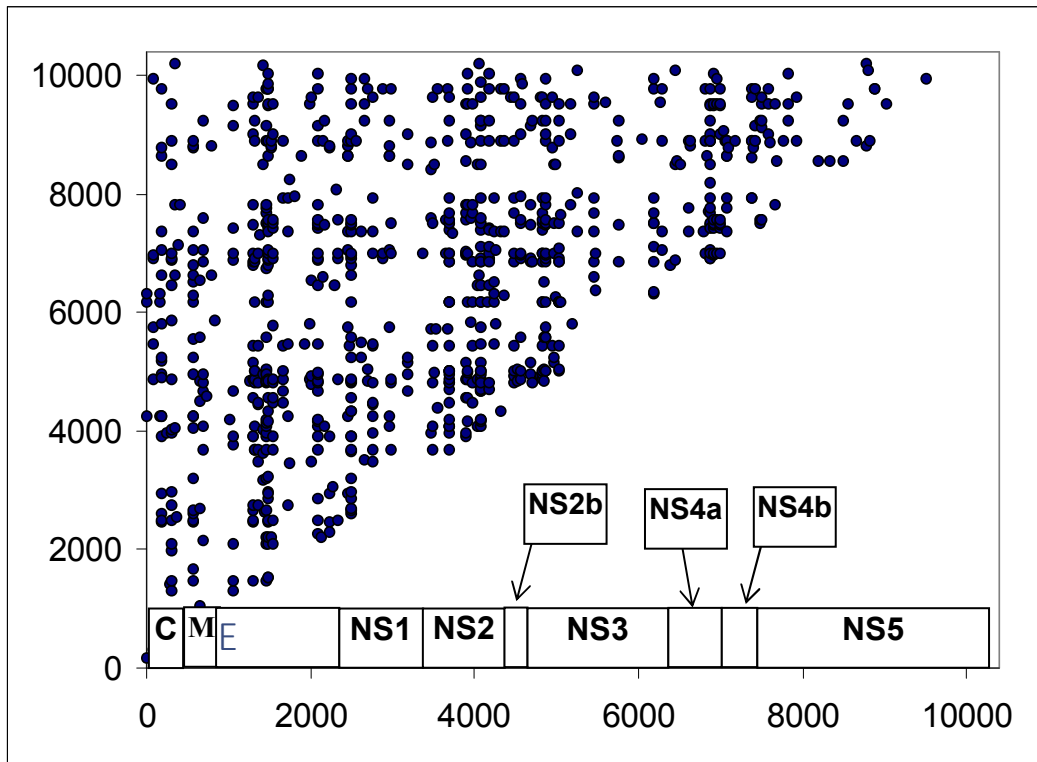


Рисунок 3.5 Схема положения выявленных корреляций в кодирующей части генома ВКЭ. По осям отложены координаты связанных замен в кодирующей части генома. На оси абсцисс указаны также координаты генов в последовательности генома вируса.

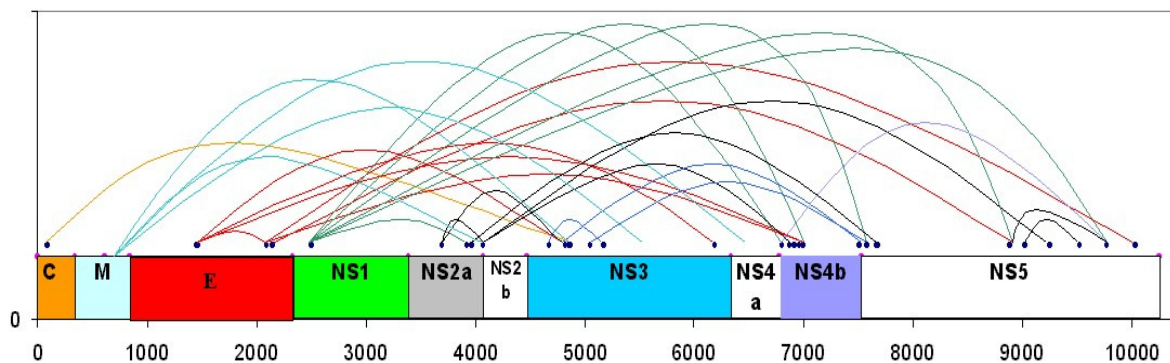


Рисунок 3.6. Распределение корреляций (значения $MJ \geq 80$) у ВКЭ вдоль кодирующей нуклеотидной последовательности. По оси абсцисс – положение нуклеотида; дугами попарно соединены позиции нуклеотидов со связанными заменами в разных частях генома.

Наибольшее количество корреляций при возникновении нуклеотидных замен приходится на нуклеотид G (нуклеотид 2489 от начала кодирующей части генома вируса с кодом доступа AM600965), расположенный на участке, кодирующем NS1.

Замена нуклеотида в данной позиции связана с некоторыми заменами нуклеотидов во всех остальных генах, кодирующих как структурные, так и неструктурные белки. Известно, что белок NS1 участвует в ранних репликационных событиях, способен образовывать комплекс с белком NS4A, а также взаимодействовать с другими белками, чем возможно и объясняется наличие большого количества корреляций.

Имеющихся описаний вторичной структуры РНК вирусов ВКЭ недостаточно для однозначного объяснения полученной схемы корреляций, т.к. механизм, приводящий к возникновению обнаруженных корреляций, точно не известен. Но данные (Tuplin et al., 2011) по вторичной структуре участка с координатами 1-330 н., сопоставленные с координатами нуклеотидных замен, для которых выявлены корреляции, показали, что положение сайтов, где наблюдаются связанные замены, соответствует трем однонитевым (неспаренным) участкам стеблей шпилек РНК, обозначенных авторами: SL4 (140 н.), SL6 (217 н., 219н.), и шпильке, не имеющей обозначения (299 н.). Предполагают, что шпилька SL6 участвует в регуляции кинетики размножения вирусов (Tuplin et al., 2011), являясь энхансерным элементом, регулирующим репликацию, т.е. взаимодействует со структурами, расположенными в других частях РНК. Наши данные подтверждают это: выявлены корреляции замен для нуклеотидов с координатами 217 н. и 219 н. и связанных с ними заменами, возникающими в последовательностях, кодирующих структурный белок Е и неструктурные белки NS3, NS4B, NS5.

Эти данные, а также опубликованные ранее результаты изучения местоположения связанных нуклеотидных замен в РНК хантавирусов (Тюлько, Якименко, 2003; Тюлько, Якименко, 2008), позволяют предположить, что выявляемые корреляции соответствуют картине взаимодействий, существующих между отдельными частями РНК при формировании ее третичной структуры, характерных для вирусов различных систематических групп. Используя такое предположение и полученную схему локализации связанных замен в последовательности РНК,

можно объяснить возникновение некоторых группоспецифичных мутаций. В работе (Беликов и др., 2010), рассматривающей роль мутаций в изменении патогенных свойств вируса, было обнаружено 19 точек, в которых мутации являются специфичными для групп инаппарантных и высоковирулентных штаммов, и могут быть связаны с изменением патогенности вируса. При этом большая часть таких мутаций, характерных для изучаемых штаммов, не приводит к существенному изменению свойств аминокислот. Кроме того было отмечено, что на всем протяжении полипротеина наблюдается чередование типоспецифичных и уникальных аминокислот, а генотипические мутации часто являются синонимичными (Демина, 2013). Сравнение координат этих 19 аминокислот, со схемой выявленных корреляций, показало, что шесть из них включены в схему связанных замен. Эти аминокислоты (далее а.к.) приходятся на различные гены: М-аминокислота в позиции 246, NS1-917, NS3-1505, NS4B-2354, 2438 (координаты даны по положению в полипротеине штамма Sofjin-НО). Замены, выявленные в вышеперечисленных сайтах, не вызывают существенного изменения физико-химических свойств аминокислоты (Беликов и др., 2010), за исключением замены в NS1-917 а.к., которая, однако, не затрагивает функционально значимые участки белка. Таким образом механизм влияния таких мутаций на патогенность не ясен.

Однако возможно предположение, что возникновение мутаций в этих сайтах или в сайтах, связанных с ними корреляционной схемой, может деформировать стебель шпилечной структуры вирусной РНК и изменить картину третичных взаимодействий. Это, в свою очередь, может влиять на процессы приспособления вируса и результаты отбора в процессе адаптации и, как следствие – на патогенность. Так в опытах с адаптацией вируса клещевого энцефалита к клеткам ВНК-21 отмечалось возникновение, как несинонимичных, так и синонимичных замен, которые меняют только вторичную структуру РНК (Вотьяков и др., 2012). Особенности взаимодействия элементов вторичной структуры РНК вируса могут определять направление его возможной эволюции. Большое количество

таких связей в геноме может препятствовать выживанию рекомбинантных последовательностей, т.к. возникшая рекомбинация способна нарушить эти взаимодействия. При сравнении количества связанных замен у вирусов японского энцефалита (рекомбинация обнаружена экспериментально) и ВКЭ (существование рекомбинации под вопросом) это предположение подтверждается (см. рис. 3.7):



Рисунок 3.7. Количество связанных замен ($MJ > 70$) в геноме вирусов японского и клещевого энцефалитов. По оси абсцисс – абсолютное к-во связанных нуклеотидных замен в геноме вирусов.

Возникновение связанных нуклеотидных замен в отдельных случаях может объясняться механизмом компенсаторных аминокислотных замен, необходимых для правильного функционирования белков вируса. И тогда в несвязанных непосредственно общим происхождением вирусах могут возникать подобные друг другу участки, существование которых может ошибочно интерпретироваться как результат рекомбинации. Кроме того, наличие корреляций должно ограничивать и направлять изменчивость отдельных участков за счет того, что замены, нарушающие схему корреляций, должны снижать приспособленность вируса.

Использование синонимичных кодонов в кодирующих последовательностях вируса

Исследования кодирующих генетических последовательностей различных организмов показали, что использование в них синонимичных кодонов не является случайным (Лукашев, 2009; Belalov et al., 2013; Perriere et al., 2002; Shah et al., 2011; Schubert et al., 2013; Qian et al., 2012) и зависит от влияния многих факторов. Например, высказывались предположения о том, что у флавивирусов использование кодонов связано с типом хозяев (позвоночные или беспозвоночные) в большей степени, чем с их эволюционной историей (Schubert et al., 2013; Su et al., 2009). Кроме того, было показано, что даже у одного и того же вируса (грипп А) стратегия использования кодонов разными его подтипами может различаться и зависеть от типичных хозяев данного подтипа (Wong et al., 2010). Отмечалось также, что тип использования отдельных кодонов может быть связан с наличием отбора и эффективностью трансляции, как у разных организмов, так и в различных тканях одного и того же организма (Perriere et al., 2002; Plotkin et al., 2004; Wong et al., 2010). Были выдвинуты предположения о связи между предпочтениями в использовании кодонов и вирулентностью вируса (Tello et al., 2013) и о возможности терапевтического изменения состава тРНК хозяина для снижения скорости производства вирусных белков (Frias et al., 2013).

Наш анализ также выявил у флавивирусов различия в использовании синонимичных кодонов. При общем сравнении флавивирусов по этому критерию в качестве обучающей выборки для определения стратегии использования синонимичных кодонов в рамках отдельной группы вирусов использовались кодирующие последовательности вирусов: японского энцефалита (224 последовательности), денге (3512), Западного Нила (613), Повассан (15), леса Кьясанур (28), желтой лихорадки (44), клещевого энцефалита (114). На рисунке 3.8 представлена схема полученной при этом

классификации. Как и ожидалось, из-за возможного пассирования вируса в разных биологических системах при лабораторных исследованиях, нет однозначного соответствия схем использования синонимичных триплетов конкретному хозяину. Тем не менее, выявляется сходство в использовании синонимичных триплетов у представителей разных представителей семейства флавивирусов.

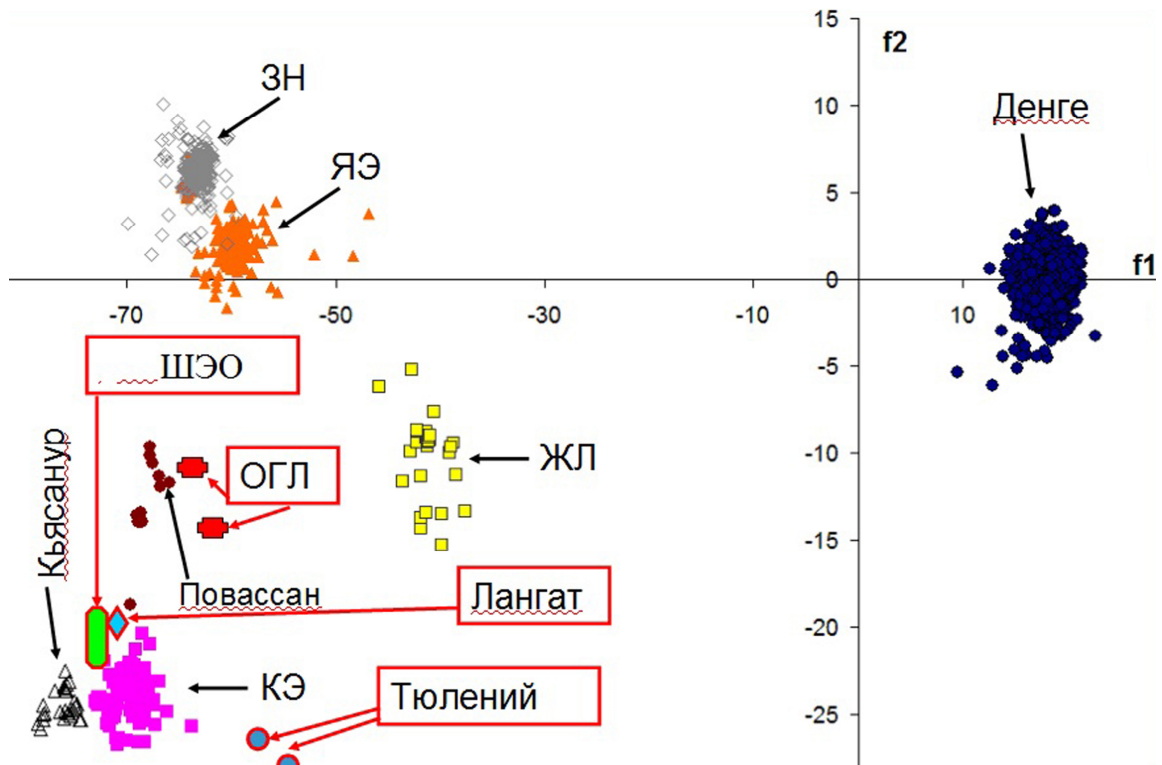


Рисунок 3.8 Диаграмма рассеяния значений дискриминантных функций, рассчитанных для кодирующих последовательностей флавивирусов.

По оси абсцисс отложены значения дискриминантной функции f_1 , по оси ординат – f_2 . Каждый маркер на схеме соответствует последовательности из банка данных, для которой были рассчитаны значения функций. Названия, обведенные рамкой, указывают на флавивирусные последовательности, не включенные в обучающую выборку, но классифицированные с помощью функций f_1 и f_2 , полученных при ее анализе. Их расположение соответствует расположению остальных вирусов из группы клещевых энцефалитов. Сокращения: ЗН – вирус Западного Нила, ЯЭ – вирус японского энцефалита, ОГЛ – вирус омской геморрагической лихорадки, КЭ – вирусы клещевого энцефалита, ЖЛ – вирус желтой лихорадки, ШЭО – шотландского энцефаломиелита овец, Кьясанур – вирус Кьясанурской лесной болезни.

Вирус клещевого энцефалита, представлен тремя основными генотипами, имеющими широкое географическое распространение, и еще тремя новыми – двумя в Прибайкалье (Demina et al., 2010; Верховина и др., 2011; Демина и др., 2012), один из которых получил название «Байкальский», и одним – на Тибете (Dai et al., 2018). Вирусы каждого генотипа в пределах своего ареала являются сочленами экосистем с различной структурой. Один из важнейших вопросов в экологии вирусов – каким образом возбудитель адаптируется к смене хозяев с различным уровнем организации (холоднокровные членистоногие – теплокровные позвоночные) и различного систематического положения. В последнее время появляется информация о хозяин-зависимых изменениях в структуре генома ВКЭ (Карганова, 2013). Другой важный вопрос – в чем причины разнообразия биологических свойств вируса в разных частях его ареала. Наличие связи патогенных свойств вируса КЭ с принадлежностью к различным генотипам дискуссионно, по крайней мере, многообразие тяжести и клинического течения заболеваний КЭ характерны для разных генотипов (Леонова, 1997, Погодина и др., 2013). Способом внести вклад в решение данных вопросов является изучение системы кодирования генома вирусов, часть которой – это стратегия кодирования белка, т.е. наличие закономерностей при использовании кодонов в соответствующих кодирующих последовательностях ДНК и РНК (Лукашев, 2009; Belalov et al., 2013; Wong et al., 2010).

Мы проанализировали эти закономерности использования кодонов основными генотипами ВКЭ. С этой целью, для полноразмерных кодирующих последовательностей ВКЭ определялись показатели относительного использования синонимичных кодонов, которые в дальнейшем изучались методами дискриминантного анализа. В результате было показано, что различные генотипы ВКЭ не одинаково используют значительную часть синонимичных кодонов, т.е. их стратегии кодирования различаются. При этом в пределах одного генотипа наблюдается большее сходство в использовании синонимичных кодонов, чем между разными генотипами ВКЭ, независимо от способа

изоляции штамма вируса и его последующего культивирования. Это иллюстрирует схема (рис. 3.9) построенная по результатам сравнения значений $RSCU_k$ для кодонов нуклеотидной последовательности каждого вируса с аналогичными значениями остальных вирусов. Сравнение проводилось с помощью модуля «Групповой анализ» программы STATISTICA (Joining (tree-clustering)) с использованием различных метрик для расчета расстояний (данные не приведены), но топология дерева сравнительно с приведенной на рис. 3.9 при этом не менялась. Схема на рисунке 3.9 показывает, что стратегии кодирования у различных генотипов ВКЭ различаются, так как при ее построении мы не закладывали никаких эволюционных моделей при расчете дистанций и анализировали только частотные характеристики использования синонимичных кодонов, а не их расположение в последовательности. Однако разбиение на кластеры в полученной схеме соответствует разделению вирусов на подтипы сибирский, дальневосточный и европейский. Данный результат позволяет предположить, что отбор конкретных синонимичных кодонов может быть важной частью процесса микроэволюции ВКЭ, который отражается в структуре филогении вируса. Причем, как показал анализ схем, построенных для наборов гомологичных фрагментов, вырезанных из кодирующих последовательностей, использованных для схемы на рисунке 3.9, общий вид схемы не менялся в зависимости от того какие координаты имел набор использованных гомологичных фрагментов в геноме ВКЭ, если длина фрагментов была не меньше 1000 нуклеотидов, несколько менялись только абсолютные значения расстояний на схеме. При меньших длинах, начинали сказываться особенности аминокислотного состава, кодируемого последовательностями разных генов например, случаи редко используемых аминокислот (Лукашев, 2009; Perriere et al., 2002). Такой результат тоже предполагает наличие однотипного отбора кодонов, не связанного со структурой конкретного гена, при кодировании всего полипротеина в рамках каждого генотипа.

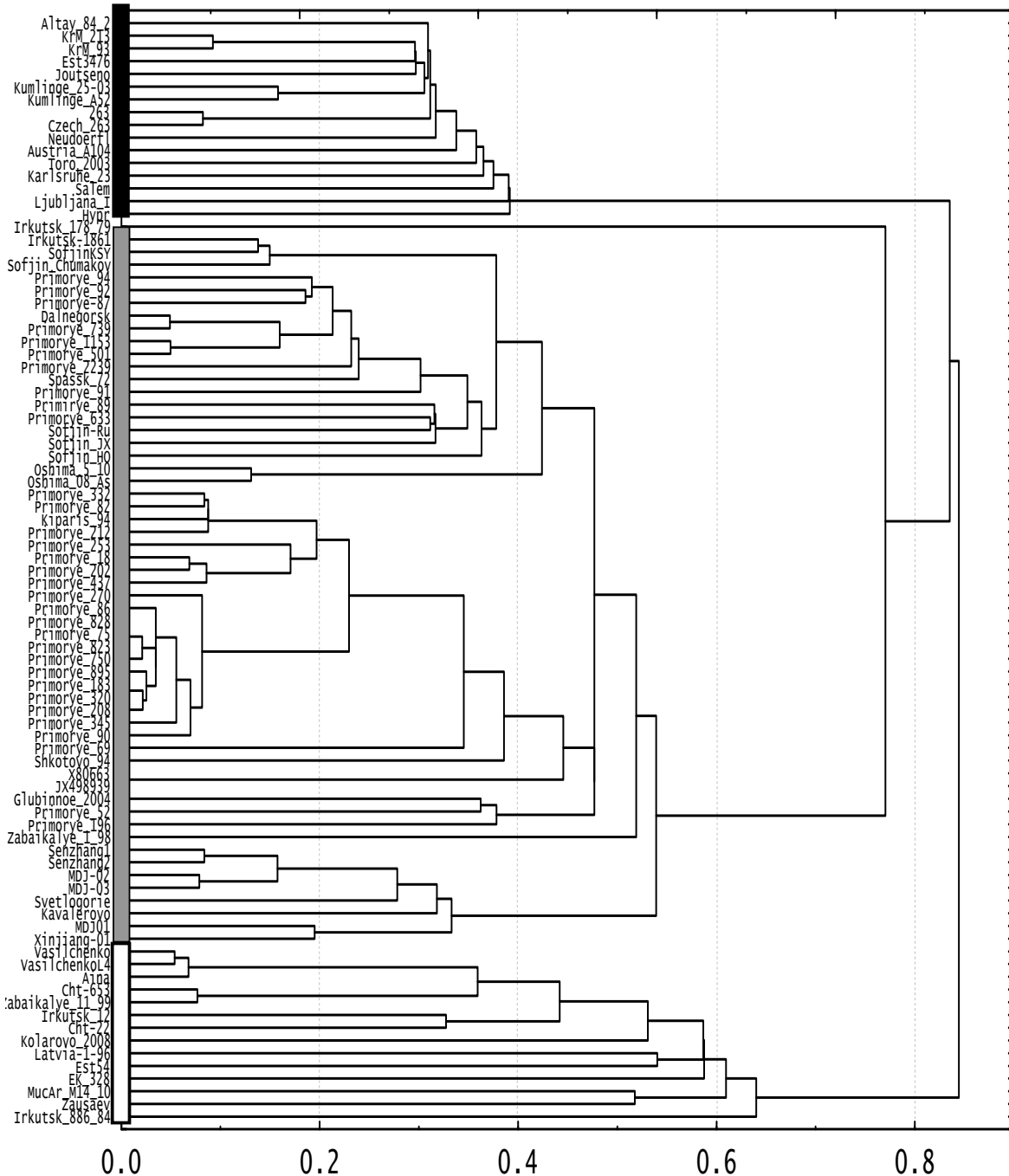
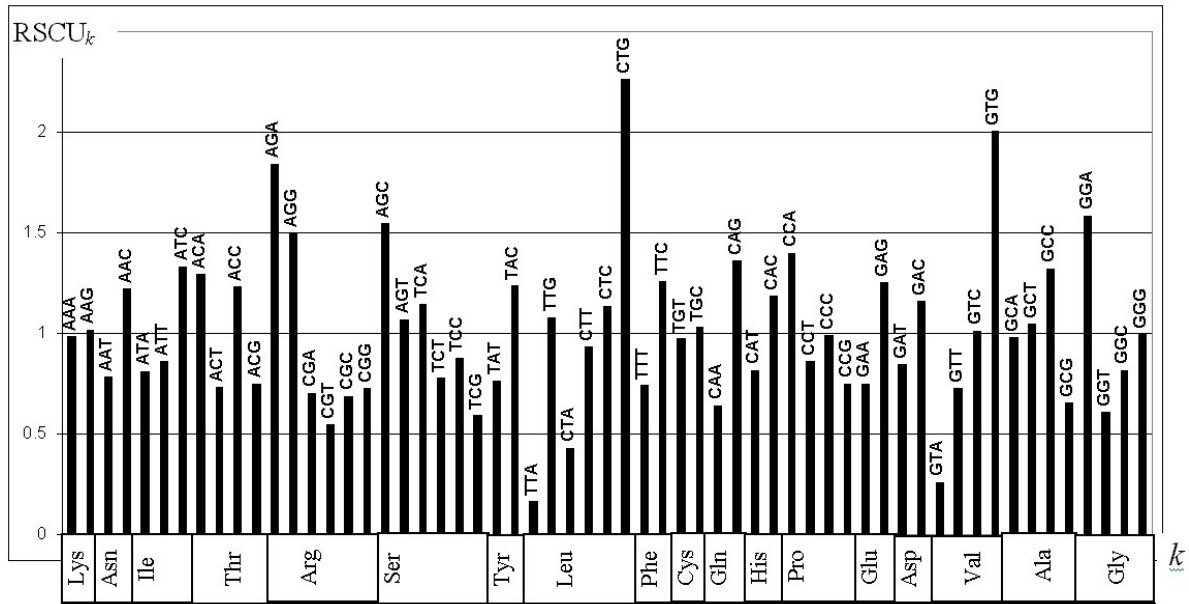


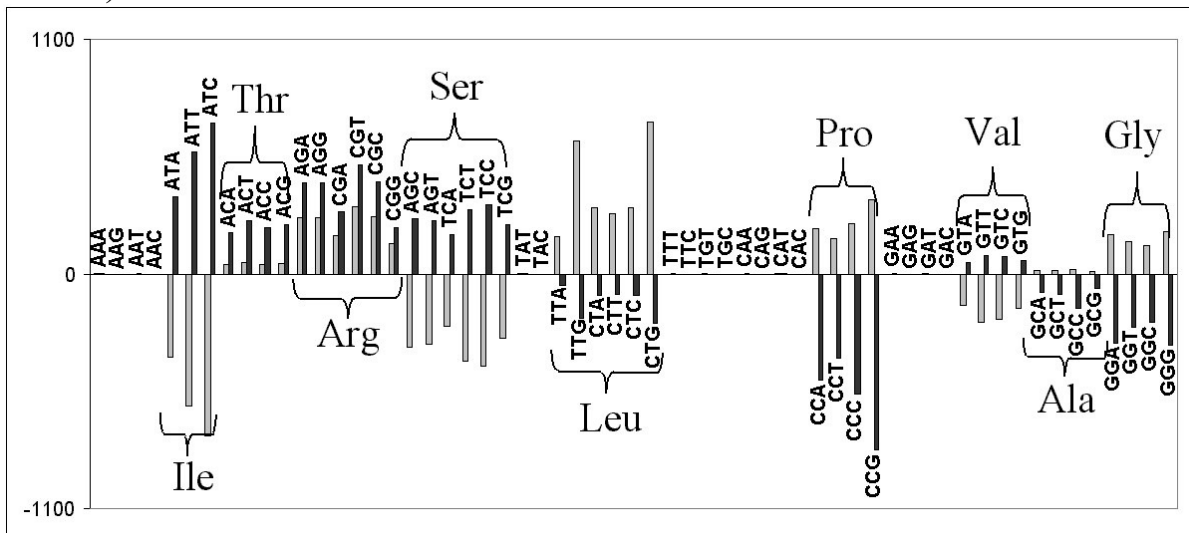
Рисунок 3.9. Схема, построенная на основании анализа сходства в использовании синонимичных кодонов по результатам сравнения значений $RSCU_k$. Схема построена с помощью групповых методов анализа программы STATISTICA (Joining (tree-clustering)) и ее команд построения иерархических деревьев. По оси абсцисс указаны значения евклидовых расстояний. Вдоль оси ординат черный прямоугольник отмечает изоляты, относящиеся к европейскому генотипу, серый прямоугольник – к дальневосточному, белый к сибирскому. Обозначения последовательностей на графе соответствуют последовательностям из банка данных EMBL.

Следующим шагом был анализ того, как именно использует синонимичные кодоны каждый генотип. Общую картину использования кодонов у ВКЭ можно получить, рассчитав по всем анализируемым последовательностям разных генотипов средние значения $RSCU_k$ для каждого кодона k (рис. 3.10). Схожая схема использования кодонов, с некоторыми вариациями в случае отдельных кодонов, наблюдается и при расчете средних значений $RSCU_k$ для каждого генотипа в отдельности (рис. 3.11). Синонимичные кодоны, кодирующие одну и ту же аминокислоту, используются не одинаково, вне зависимости от того, сколько синонимичных кодонов ей соответствует (см. рис. 3.10 б). Неодинаковое использование синонимичных кодонов может быть вызвано разными причинами и однозначный вывод о существовании значимых различий в стратегии кодирования между всеми генотипами сделать нельзя. Важно понять, могут ли различия в использовании конкретных кодонов быть связаны с различиями в общей стратегии кодирования генотипов, или же они вызваны случайными причинами или действиями независимых факторов. Например, низкое значение $RSCU_{TGA}$ (см. рис. 3.10 а) с большой вероятностью объясняется, тем, что TGA – претерминальный кодон, а отбор против таких кодонов, выявлен у многих организмов (Лукашев, 2009; Бутвиловский и др., 2009).

Дискриминантный анализ позволяет изучать различия между несколькими группами объектов по многим переменным (Халафян, 2007; Орлов, 2006), а также интерпретировать межгрупповые различия и определять вклад каждой переменной при классификации объектов. Мы применяли его для анализа различий в частотных характеристиках использования синонимичных кодонов у каждого генотипа ($RSCU_k$). При этом каждая последовательность является объектом, генотип – это группа объектов, а значения $RSCU_k$ – переменные, описывающие объекты. Рассчитывая канонические дискриминантные функции (f_1, f_2, \dots), число которых на единицу меньше числа выделяемых групп, мы оптимально разделяем группы и видим вклад каждой переменной в дискриминацию.



a)



б)

Рисунок 3.10. Использование синонимичных кодонов у ВКЭ.

а) Высота столбцов на рисунке соответствует средним значениям $RSCU_k$, рассчитанным для каждого кодона k по всем анализируемым последовательностям. У вершины каждого столбца указан нуклеотидный состав кодона k . Вдоль оси абсцисс обозначены аминокислоты кодируемые каждым кодоном;

б) Значимость использования отдельных кодонов для дискриминации. По вертикали отложены значения стандартизованных коэффициентов канонических дискриминантных функций f_1 и f_2 : серые столбцы – f_1 , черные – f_2 . Синонимичные кодоны сгруппированы вдоль оси абсцисс в соответствии с тем, какую аминокислоту они кодируют (обозначение соответствующих аминокислот указаны у вершин фигурных скобок).

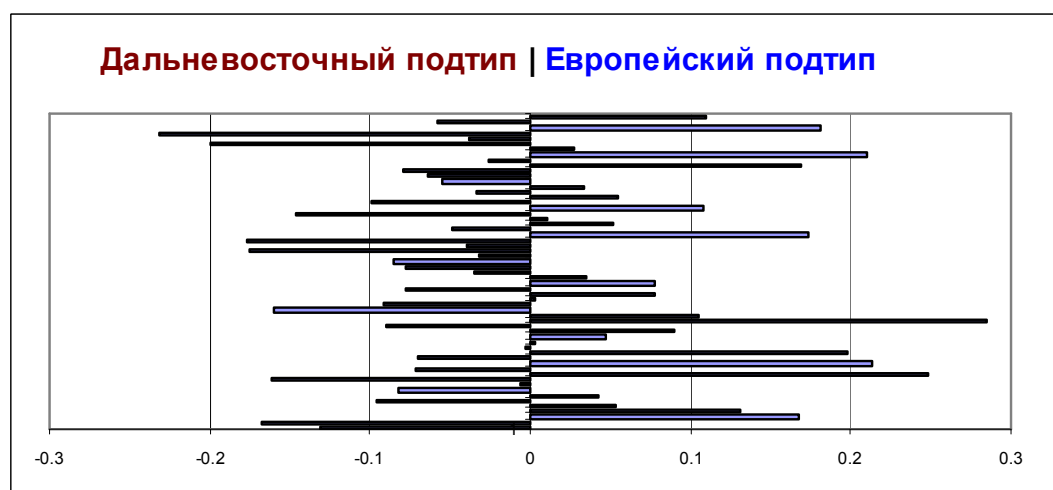
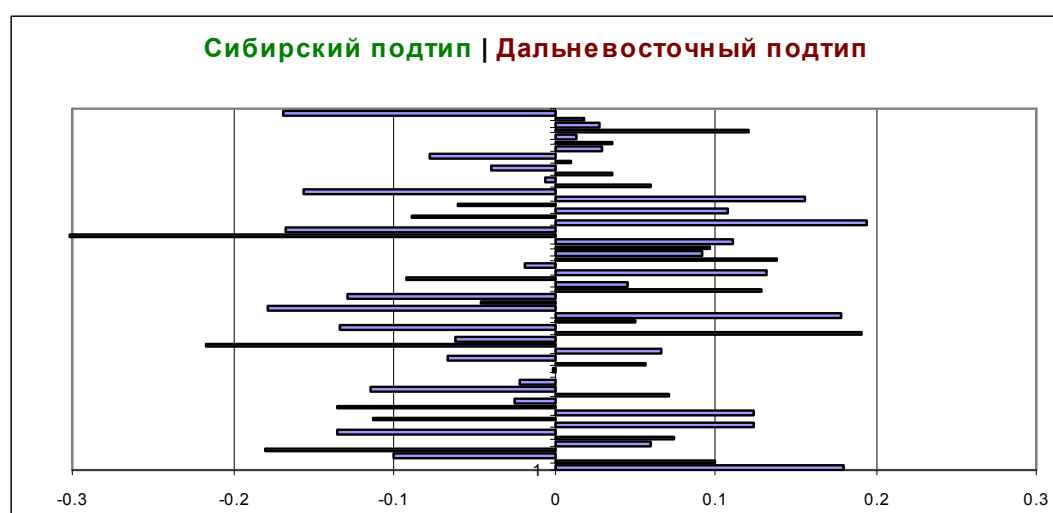
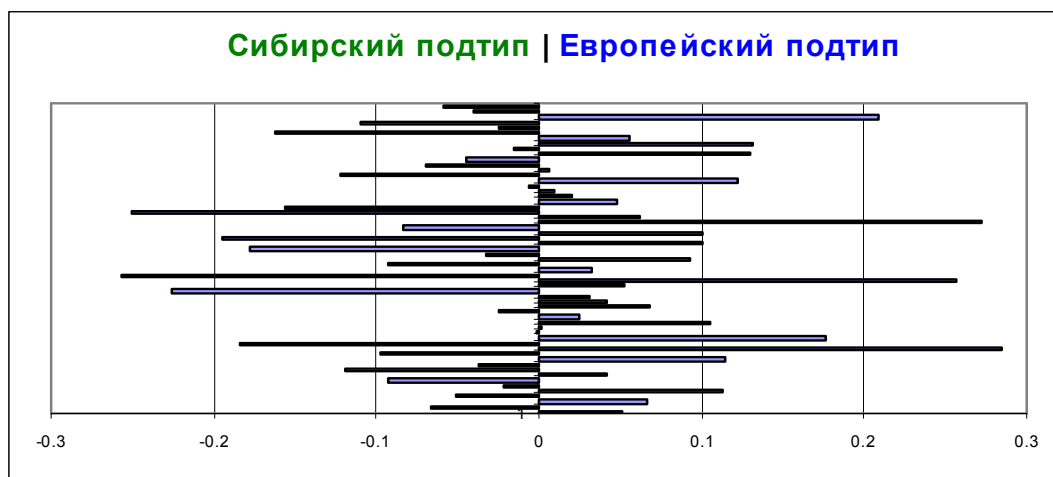
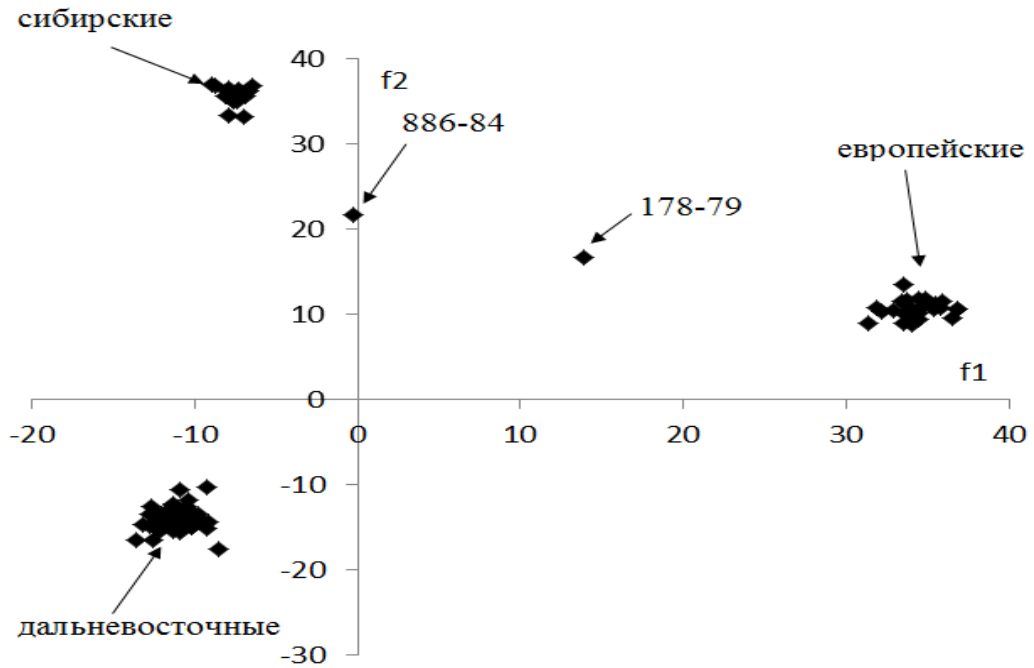


Рисунок 3.11. Характерные различия в использовании кодонов при сравнении различных генотипов ВКЭ. Длина горизонтальных столбцов соответствует разности средних значений $RSCU_k$ рассчитанных для каждого генотипа по полноразмерным кодирующим последовательностям. Вертикальная ось на каждом рисунке задает одинаковый порядок следования кодонов.

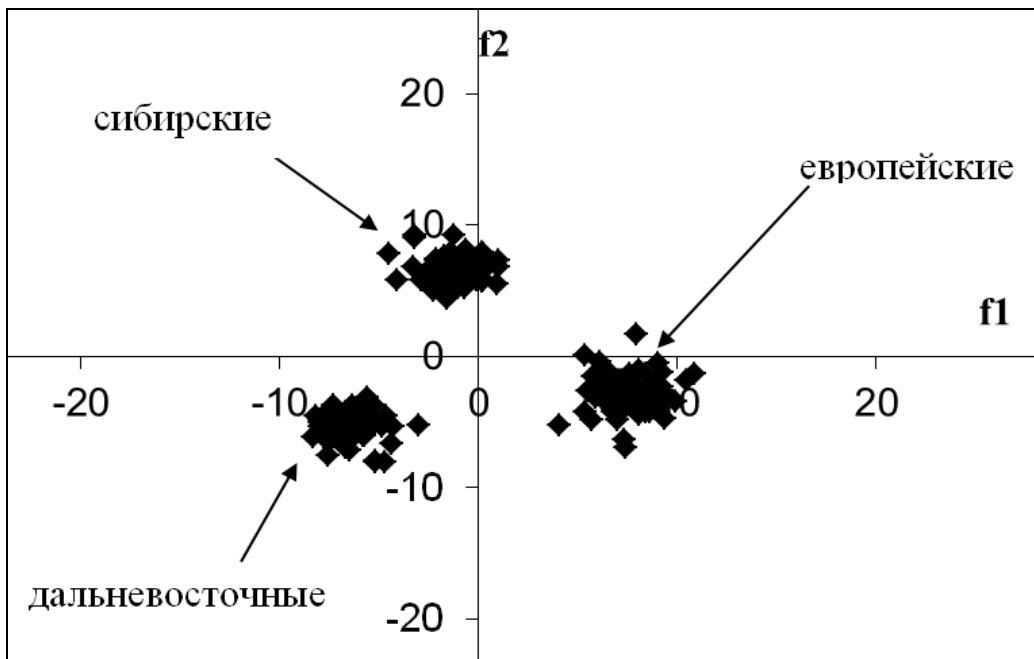
Стандартизованные коэффициенты дискриминантных функций позволяют оценить как вклады, так и направления вкладов переменных в каждую каноническую функцию, т.к. они рассчитываются по стандартизованным переменным и принадлежат к абсолютной шкале измерений (Халафян, 2007). Как видно из рисунка 3.10 б, различия в использовании кодонов AAA, AAG, AAT, AAC, TAT, TAC, TTT, TTC, TGT, TGC, CAA, CAC, GAG, GAT, GAA, GAG, GAT, GAC – не вносят вклада в дискриминацию генотипов, тогда как различия в использовании остальных кодонов позволяют провести такую дискриминацию. Эти значимые кодоны соответствуют аминокислотам: изолейцин (Ile), треонин (Thr), аргинин (Arg), серин (Ser), лейцин (Leu), пролин (Pro), валин (Val), аланин (Ala), глицин (Gly). Как и ожидалось, наибольшее значение для дискриминации имеют кодоны аминокислот с наибольшей вырожденностью. Ранее эти аминокислоты (кроме пролина) уже упоминались в качестве генотипспецифических признаков в отдельных позициях вирусной последовательности (Демина, 2013). Здесь же указывалось на наличие генотипических отличий на уровне синонимичных мутаций в положении третьего нуклеотида кодона.

На рисунке 3.12 а дана диаграмма рассеяния для значений дискриминантных функций, рассчитанных для каждой полноразмерной последовательности. Видно, что все случаи хорошо разделяются на три группы, в соответствии с тремя генотипами.

Из рисунка 3.10 б видно, что наибольший вклад в дискриминантную функцию f_1 вносят кодоны CTG, TTG, CCG, CGT, CTC, CTA, CTT, CGC, AGA, AGG, CCC, CCA, GGG, присутствие которых изменяет ее значения (на рис. 3.12 а) и вызывает смещение вправо к европейскому субтипу; и кодоны GTC, GTT, TCA, TCG, AGT, AGC, ATA, TCT, TCC, ATT, ATC, присутствие которых вызывает уменьшение ее значений, что соответствует смещению влево к сибирским и дальневосточным субтипам.



а)



б)

Рисунок 3.12. Диаграмма рассеяния значений дискриминантных функций, рассчитанных для последовательностей ВКЭ:

- а) рассчитана по полноразмерным кодирующим последовательностям ВКЭ,
 б) рассчитана по кодирующим последовательностям белка Е.

По горизонтали отложены значения дискриминантной функции f_1 , по вертикали f_2 . Каждый маркер на схеме соответствует определенной последовательности из банка данных. Последовательности генотипов 886_84 и 178_79 не входили в обучающую выборку.

В случае функции f_2 (см. рис. 3.10 б) наибольший вклад в увеличение её значения (на рис. 3.12 а) вносят кодоны: ATC, ATT, CGT, CGC, AGA, AGG, ATA, TCC, TCT, CGA, AGC, ACT, AGT, TCG, ACG, CGG, ACC, что соответствует смещению вверх к сибирскому субтипу, в уменьшение – кодоны: TTG, GGC, CTG, GGT, GGA, GGG, CCT, CCA, CCC, CCG. Примечательно, что использование одних и тех же кодонов оставалось значимым для классификации последовательностей, как при сравнительном анализе различных подтипов ВКЭ, так и при анализе отдельных геновариантов (результаты не приведены) в рамках одного и того же подтипа (были проанализированы дальневосточный и сибирский подтипы), менялись только значения стандартизованных коэффициентов, которыми в нашем исследовании описывалась изучаемая стратегия кодирования. Качество классификации (см. рис. 3.12 а), построенной по результатам, проведенного дискриминантного анализа, оказалось хорошим (лямбда Уилкса = 0.0081), ошибочных классификаций для генотипов 1,2,3 в кросс-проверочной выборке не было. Локализация на рисунке 3.11а, включенных в кросс-проверочную выборку геновариантов Irkutsk_886_84 («байкальский» генотип) и Irkutsk_178_79, подтверждает выделение их в самостоятельные генотипы (Демина, 2013).

Качество дискриминации при использовании фрагмента РНК, кодирующего белок E, несколько хуже, как это видно на рисунке 3.12 б (расстояние между центроидами классов значительно меньше).

Полученные классификационные функции можно применять для типирования гомологичных полноразмерных или протяженных (>1500 нуклеотидов) фрагментов кодирующих нуклеотидных последовательностей ВКЭ, и по мере увеличения их количества уточнять значения коэффициентов функций.

Таким образом, мы видим, что разные генотипы ВКЭ имеют неодинаковые (см. рис. 3.9 и рис. 3.12), хотя и схожие (см. рис. 3.10 а) стратегии использования кодонов. Поэтому появление одних и тех же синонимичных замен в последовательностях

со схожей стратегией можно объяснить только наличием этой стратегии, без дополнительных предположений об их эволюционной истории. При этом, объяснения выявленным предпочтениям в использовании кодонов могут быть различными.

Наше исследование не показало различий в использовании синонимичных кодонов в зависимости от способа изоляции штамма вируса и его последующего культивирования, возможно, из-за особенностей выборки. Однако считается, что неодинаковое по частоте использование синонимичных кодонов не случайно и может отражать количественную представленность отдельных изоакцепторных тРНК в клетках организма. Показано, что родственные организмы часто имеют сходный тип предпочтения кодонов (Лукашев, 2009; Бутвиловский и др., 2009; Su et al., 2009). Частота использования кодонов в разных генах одного и того же организма иногда является фактором, регулирующим уровень экспрессии этих генов в процессе трансляции (Стародуб, Рачков, 1986; Dittmar et al., 2006). Чем реже тот или иной кодон используется для кодирования аминокислоты в данном организме, с тем меньшей скоростью он будет транслироваться рибосомами вследствие низкой внутриклеточной концентрации тРНК, узнающей такой кодон. Вирусы являются внутриклеточными паразитами и для воспроизводства используют тРНК хозяина, поэтому можно предположить, что их стратегия кодирования, в целях эффективного размножения должна отражать состав пула тРНК клетки-хозяина и в этом случае генотипы с различающейся стратегией могут иметь различия по степени приспособленности к организму-хозяину.

Возможно также и другое объяснение. Было показано (Nougairède et al., 2013), что для вируса Чикунгунья искусственная перекодировка нуклеотидной последовательности в случае синонимичных замен приводила к снижению приспособленности вируса, понимаемой как способность к эффективному воспроизводству вируса. Однако возврат к первоначальной кодировке измененных кодонов происходил редко (0,4 %),

а дальнейшая приспособительная эволюция вирусов шла путем накопления компенсаторных замен, как синонимичных, так и несинонимичных. При предположительном наличии подобного механизма у ВКЭ, в пользу чего свидетельствует выявленное ранее (Тюлько, Якименко, 2012) наличие корреляций при возникновении нуклеотидных замен у ВКЭ, возникновение мутаций в определенных участках последовательности может индуцировать ряд компенсаторных замен. Типы таких замен будут не случайными и могут определяться требованиями отбора по сохранению вторичной или третичной структуры вирусной РНК, формируя определенную стратегию кодирования данного вирусного генотипа.

Возможно, что разные генотипы ВКЭ, выработавшие разные стратегии использования кодонов, по-разному приспособивались к организмам своих хозяев (позвоночных и беспозвоночных). И этот вопрос, очевидно, требует дальнейшего более подробного изучения. В настоящее время можно считать, что стратегии кодирования у различных генотипов и подтипов ВКЭ несколько различаются, и отбор конкретных синонимичных кодонов может быть важной частью процесса микроэволюции ВКЭ, который отражается в филогении вируса, т.е. не все синонимичные кодоны используются одинаково разными генотипами и геновариантами вирусов.

Наличие внутри подтипа отличной от других геновариантов стратегии кодирования аминокислот может быть началом микроэволюционного процесса, приводящего к выделению новых подтипов ВКЭ. С этой точки зрения понятна характеристика, которая была дана подтипам 4 и 5 (рис 3.12 а) при сопоставлении нуклеотидных и аминокислотных последовательностей их белков Е с аналогичными последовательностями других геновариантов «...штамм 178–79, имеющий собственный, отличный от других генотипов вируса КЭ набор нуклеотидов в составе изученного фрагмента РНК, по аминокислотной последовательности идентичен генотипу 1...» (Вотяков и др., 2002, стр. 157). Штамм 886-84 тоже обладает свойством самостоятельного генотипа при изучении

гомологии нуклеотидных последовательностей, в то время как при рассмотрении его аминокислотной последовательности в отдельных позициях проявляет сходство с другими подтипами (Вотьяков и др., 2002, Верховина, 2000).

Анализ частотных характеристик использования кодонов с помощью методов дискриминантного анализа для классификации протяженных (>1500 нуклеотидов) гомологичных фрагментов вирусного генома можно рекомендовать, как быстрый метод классификации, в тех случаях, когда из-за большого количества и длины анализируемых последовательностей их выравнивание и расчет филогенетических деревьев затруднительны.

Влияние количественных характеристик кодирующих последовательностей РНК-вирусов на оценки значения скорости эволюции

Нейтральная теория молекулярной эволюции (Kimura, 1968; King and Jukes, 1969) постулирует, что на молекулярном уровне большинство изменений определяются генетическим дрейфом селективно нейтральных мутаций, возникновение которых – результат стохастических процессов. Эти стохастические процессы могут быть описаны достаточно разработанным математическим аппаратом, который должен учитывать закономерности и структурные ограничения, наложенные физическим и химическим устройством эволюционирующей системы, в то время как естественный отбор определяет вероятность закрепления изменений в популяции. Таким образом, по мнению М. Кимура (1985), структурные возможности генома и внутренние закономерности его перестройки определяют эволюцию видов. Эти положения считаются применимыми и для описания эволюции вирусов (Вотьяков и др., 2002). Теория нейтральной эволюции в значительной мере связана с наличием данных о существовании молекулярных часов в процессе эволюции организмов. Э. Цукеркандль и Я. Полинг (Zukerkandl, Pauling, 1965) сформулировали концепцию

существования молекулярных часов, утверждающую, что для отдельной генетической последовательности скорость эволюции постоянна во времени и одинакова у всех дочерних последовательностей. Однако в случае флавивирусов, относящихся к РНК-вирусам, применение данных концепций должно учитывать следующие особенности:

– Формирование понятий «вид» и «популяция» у вирусов до сих пор является объектом дискуссий и подлежит обсуждению. Для описания микроэволюционных процессов у вирусов, в том числе и флавивирусов, была использована концепция квазивида (Морозова, 2014; Bakhvalova et al., 2011; Viebricher and Eigen, 2006; Holmes and Moya, 2002), в рамках которой предполагается, что в каждый момент времени вирусная популяция представляет собой группу неидентичных (незначительно отличающихся между собой) вирусных частиц, микроэволюция которой в различных условиях приводит к различному изменению численности потомков каждой из таких неидентичных частиц (Romanova et al., 2007), т.е. происходит отбор квазивидов, наиболее приспособленных к существующей в настоящий момент окружающей среде. Из имеющихся экспериментальных данных следует, что в процессе последовательных репликаций ВКЭ в восприимчивом организме, геном вируса весьма изменчив, и, следовательно, его любой природный изолят представляет собой один из штаммов гетерогенного по своим молекулярно-генетическим характеристикам вирусного пула из близкородственных штаммов (Амосов, 2006).

– Скорость накопления замен у РНК-вирусов намного выше, чем у ДНК-вирусов из-за свойств самой молекулы РНК и отсутствия системы репарации. Высокая скорость возникновения мутаций сама по себе может быть причиной несостоятельности некоторых филогенетических методов (Felsenstein, 1978; Felsenstein, 2004; Schulmeister, 2004) из-за попадания в зону Фельзенштейна (Felsenstein zone), когда возникает феномен «притяжения длинных ветвей», т.е. высокая скорость мутаций в независимых эволюционных линиях

создает значительную вероятность возникновения одинаковых мутаций, приводящую к ошибочной оценке родства последовательностей.

– Значение скорости накопления замен может существенно варьироваться у разных РНК-вирусов в зависимости от особенностей их жизненного цикла и строения генома, например у ВИЧ средняя частота нуклеотидных замещений в структурных генах РНК-вирусов оценивается $\approx 2,5 \cdot 10^{-3}$ (Jenkins et al., 2002) замен на один нуклеотидный сайт в год. А у ВКЭ $\approx 2,90 \cdot 10^{-6}$ (Uzategui et al., 2012), что предположительно связано с двойной природой клеток хозяев-носителей и животных-прокормителей клещей у ВКЭ – членистоногих и теплокровных позвоночных, отбор в которых накладывает определенные ограничения. (Амосов, 2006). На величину скорости влияет также и размер генома – была выявлена отрицательная корреляция между скоростью накопления замен и размерами генома (Jenkins et al., 2002).

– Приспособление к организму следующего хозяина может менять скорость накопления замен (Romanova et al., 2007). Например, есть предположения, что у некоторых штаммов ВКЭ сибирского субтипа (*Yar*), не способных агглютинировать птичьих эритроциты, существуют процессы молекулярной адаптации к организму европейской популяции клещей *Ixodes ricinus*, посредством накопления точечных замен, каждая из которых, меняет свойства поверхности вириона и облегчает проникновение вируса в клетку нетипичного хозяина. Следствием такой адаптации предполагается способность вируса проходить гематоэнцефалический барьер при заражении человека (Khasnatinov et al., 2009).

– Статистические тесты не всегда подтверждают применимость классической модели молекулярных часов для разных вирусов (Jenkins et al., 2002). Так результаты проверки на соответствие модели молекулярных часов, для вируса гриппа А показали соответствие этой модели, а для вируса везикулярного стоматита – нет (Лукашев, 2009).

– За изменчивость в пределах вида отвечает только часть кодирующей последовательности, не включающая в себя

участки, консервативные в пределах групп видов или семейства, а не вся анализируемая последовательность. В то же время, при расчете количества замен, приходящихся на один сайт за единицу времени, учитывается вся длина анализируемой последовательности (р-дистанции), что будет приводить к занижению значений скорости эволюции (Лукашев, 2009). Различные эволюционные модели пытаются исправить этот недостаток, учитывая множественные замены в одном и том же сайте (коррекция Джукса-Кантора), неодинаковую частоту встречаемости нуклеотидов (модель Таджима-Неи), оценивая вероятность конкретного типа замен (модель Кимуры, модель Тамуры-Неи) и вероятности возникновения замен в разных сайтах (предположительно соответствующих гамма-распределению). Однако проверка применимости данных моделей возможна только при наличии достоверной временной шкалы анализируемых эволюционных событий (что в случае вирусов не всегда возможно) или посредством компьютерных симуляций (что для РНК-вирусов с ограниченным размером их генома вполне реализуемо).

– Существует некоторая неоднозначность в определении понятия «скорость накопления замен». Если значение «скорости возникновения замен» очевидно, связано, прежде всего, с физико-химическими свойствами самой молекулы РНК и окружающей её средой, то значение «скорости накопления замен» зависит от величины временного интервала, который мы выбираем при рассмотрении процесса закрепления мутаций в геноме. И величина этого временного интервала из-за ограниченности срока достоверных наблюдений и регистрации изменений в вирусных геномах с учетом возможной изменчивости самого значения «скорости накопления замен» по вышеперечисленным причинам, не может быть задана корректно.

– Наличие значительного числа корреляций при возникновении замен у некоторых флавивирусов, связанное с необходимостью сохранения вторичной структуры РНК, может затруднить возникновение даже синонимичных замен в некоторых частях генома или спровоцировать возникновение

компенсаторных замен и таким образом влиять на скорость эволюции вируса.

– Наличие схожих предпочтений при использовании синонимичных кодонов у вирусов одного вида может привести к возникновению схожих замен в процессе эволюции и, следовательно, к неправильной оценке ее скорости.

В связи со всем вышеизложенным возникает вопрос о том, правомерно ли вообще задавать точное постоянное значение скорости накопления замен у некоторых РНК-вирусов применительно к любым временным интервалам и любым условиям существования?

Поэтому стоит попытаться понять, как структурные возможности генома и внутренние закономерности его перестройки могут влиять на его эволюцию.

Даже в случае небольшого и сравнительно простого генома флавивирусов, этот геном является сложной эволюционирующей системой с многочисленными обратными связями, влияющими на его эволюцию, как на популяционном уровне (действие иммунной системы хозяев), так и на молекулярном уровне (ограничения создаваемые строением вирусных РНК и белков). Поэтому создание полной модели, описывающей развитие данной системы во времени пока невозможно. Однако можно проанализировать, каким образом учет хотя бы некоторых из вышеперечисленных особенностей может отразиться на оценке параметров наблюдаемых эволюционных процессов у флавивирусов.

Рассмотрим, например, каким образом может меняться оценка эволюционных расстояний между исходной и конечной вирусными последовательностями, если учитывать ограниченность размеров изменчивой части кодирующей последовательности флавивирусов и наличие корреляций при возникновении нуклеотидных замен.

Простейшим вариантом описания процесса накопления замен при эволюции нуклеотидной последовательности в этом случае является дискретное уравнение, в котором рассчитываются значения X_n и X_{n+1} – количества накопленных замен в эволюционирующей нуклеотидной последовательности,

наблюдаемые с условным единичным интервалом времени в моменты времени n и $n+1$. Если учитывать наличие корреляций при возникновении нуклеотидных замен (например компенсационные замены), то количество изменений – X_{n+1} в каждый следующий момент времени будет зависеть от скорости возникновения замен – λ , количества замен возникших к предыдущему моменту времени – X_n и от количества изменчивых сайтов L :

$$X_{n+1} = \lambda X_n (L - X_n) \quad (1)$$

Значение $\lambda(L - X_n)$ – показывает линейное снижение количества новых изменений в последовательности, по мере уменьшения количества немутировавших сайтов в последовательности – $(L - X_n)$.

Разделив уравнение (1) на L и определив α как:

$$\alpha = \lambda/L \quad (2)$$

а относительные количества замен как $x_{n+1} = X_{n+1}/L$ и $x_n = X_n/L$ получим:

$$x_{n+1} = \alpha x_n (1 - x_n) \quad (3)$$

Это каноническая форма логистического отображения, называемого также квадратичным отображением или отображением Фейгенбаума. Логистическое отображение – дискретный аналог хорошо известного непрерывного логистического уравнения Ферхюльста; оно отражает тот факт, что изменение x происходит в дискретные моменты времени (Анищенко, Вадивасова, 2011). Здесь α – положительный параметр, характеризующий скорость накопления замен в нормализованной модели, формируемую процессами возникновения нуклеотидных замен и возникновения связанных с ним коррелированных нуклеотидных замен, число которых в следующий момент времени x_{n+1} зависит от числа первичных замен в предыдущий момент времени x_n и от количества изменчивых сайтов в последовательности L .

Поведение систем, описываемых таким уравнением хорошо изучено (Анищенко, Вадивасова, 2011) и зависит от величины коэффициента α :

– Если $\alpha < 1$, гипотетический случай, когда замены почти не возникают, и собственно процесса эволюции нет.

– Если $1 < \alpha < 2$, количество замен быстро выйдет на стационарное значение, независимо от начальных условий, т.е. скорость эволюции постоянна и модель молекулярных часов применима.

– Если $2 < \alpha < 3$, количество замен придёт к тому же стационарному значению, но вначале будет несколько колебаться вокруг него. Скорость эволюции можно считать постоянной на больших интервалах времени, модель молекулярных часов применима с некоторыми ограничениями.

– Если $3 < \alpha < 3.57$, то установившаяся в какой-то конкретный момент времени скорость эволюции может соответствовать одному из уровней изменчивости, количество которых зависит от точного значения α , и переход между ними происходит случайным образом. В такой ситуации оцениваемая скорость эволюции может принимать различные значения в сходных ситуациях, и модель молекулярных часов не может быть использована.

– Если $\alpha > 3.57$, начинается полностью хаотическое поведение, небольшие изменения в начальных условиях приводят к несопоставимым отличиям дальнейшего поведения системы во времени. Скорость эволюции нельзя предсказать, у реальных вирусов этот теоретический сценарий должен приводить к деградации вирусной популяции и вероятно не реализуется из-за наличия стабилизирующего процесса отбора.

Уже такая простая модель описывает несколько сценариев установления различных значений скорости эволюции, реализующихся в зависимости от длины изменчивой части последовательности, скорости возникновения нуклеотидных замен и наличия корреляций при возникновении нуклеотидных замен. Изменение любого из этих параметров может дать разные значения скорости эволюции даже для очень похожих вирусов. Это до некоторой степени согласуется

с положениями М. Кимуры о том, что перестройки в генетическом материале связаны преимущественно не с воздействиями внешней среды, а с независимыми от нее внутренними генетическими процессами. Даже без оценки точных значений параметров данного уравнения, можно получить объяснения некоторых эффектов, ранее выявленных у вирусов. Например, обнаруженная ранее отрицательная корреляция между скоростью эволюции и размерами генома (Jenkins et al., 2002), становится понятна, если принять во внимание, вышеприведенную формулу (2) для α – параметра, характеризующего скорость накопления замен в нормализованной модели, значение которого обратно пропорционально L – количеству изменчивых сайтов в последовательности.

Если в будущем, при создании подобных моделей с уточненными значениями параметров удастся более точно описать эволюционирующий вирусный геном с учетом нескольких эффектов, которые создаются существующими предпочтениями в использовании синонимичных кодонов, наличием корреляций при возникновении нуклеотидных замен и наличием в геноме участков с разной степенью консервативности, то возможно, мы сможем предсказать разнонаправленное развитие конкретного вирусного квазивида, при попадании в конкретные условия. Например при взаимодействии с организмами хозяев или разными тканями одного и того же хозяина. Ранее уже высказывались предположения о поддержании более широкой или более узкой штаммовой гетерогенности вируса определенными хозяевами (Руководство по вирусологии, 2013), что в принципе соответствует описанным вариантам поведения системы.

Закономерности, выявляемые при статистическом анализе нуклеотидных последовательностей и моделировании процессов возникновения и накопления замен, позволяют по-новому оценить важность сведений об изменчивости кодирующих последовательностей клещевого энцефалита, в частности, и том, как она может повлиять на микроэволюцию флавивирусов.

Приложения

Приложение 3.1

Функции отдельных участков генома вируса клещевого энцефалита

Ген	Координаты	Описание	Источник описания
С	делеция перед 112 а.к.	влияет на патогенность штамма	Беликов и др., 2010
	79–119 н.	энхансер репликации	Tuplin et al., 2011
preM	замена в 62–70 а.к.	снижает секрецию белка Е	Yoshii et al., 2012
Е	замена в 122 а.к.	влияет на пептид слияния и изменяет размер бляшек в культуре клеток СПЭВ	Карганова Г. Г., 2013 Mandl et al., 2001; Romanova et al., 2007
	замена в 426 а.к.	коррелирует с видовой принадлежностью переносчика (<i>I. persulcatus</i> или <i>I. ricinus</i>)	Romanova et al., 2007
	замены в 67, 122, 277 а.к.	снижают способность агглютинировать эритроциты, связаны с адаптацией к организму-хозяину	Khasnatinov et al., 2009
NS1	замена в 141 а.к.	предположительно связана с патогенностью	Belikov S. Et al., 2014
NS3	замены в 16 и 45	влияют на процесс почкования вирусных частиц	Belikov S. et al., 2014
NS5	замены в 355–735 а.к.	влияют на супрессию передачи сигналов интерферона I типа (IFN-I)	Best S.M. et al., 2005 Park G.S. et al., 2007
	замены в 378 и 674 а.к.	ответственны за пониженную нейровирулентность	Nayasaki D. et al., 2004
	замена в 692 а.к.	связана с изменением патогенности	Belikov S. et al., 2014

Примечание: н. – значение координаты соответствуют номеру нуклеотидов в первичной последовательности каждого гена, а.к. – значение координаты соответствуют номеру аминокислоты в гене.

**Консервативные участки
кодирующих последовательностей флавивирусов**

(значения координат отложены от первого нуклеотида выравненных кодирующих последовательностей вирусов)

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
С – белок капсида	28-68/ AAGGGGGCGGTCCCCCTCGACG AGTGTCGAAAGAGACCGC 72-83/ GAAGACGCGTCA 112-126/ GTGTTGATGCGCATG	1-26/ ATGACTAAAAAACCAGGAGGGCCCGG 40-59/ ATCAATATGCTGAAACGCGG 62-80/ TACCCCGCGTATTCCCACT 82-101/ GTGGGAGTGAAGAGGGTAGT 155-167/CGTTCTTCAAGTT 169-195/ ACAGCATTAGCCCCGACCAAGGCGCTT 229-239/ GCAATGAAACA 257-266/ GAGAACTTGG 304-320/ CAAAACAAAAGAGGAGG	1-26/ ATGTCTAAGAAACCAGGAGGGCCCGG 34-59/ CGGGCTGTCAATATGCTAAAACGCGG 220-230/ AAACAAACAGC
М – мембранный белок	391-401/GCTGAAGGAAA 433-446/GGCACCTGTGTGAT 466-476/TCATGGTGTGA 490-500/TATGAGTGTGT	460-470/ACCTCAAAAGG 631-644/ACCAGGCATTCCAA 700-714/AAAAAAGAGGCTTGG 808-821/TGGATGCTTGGCAG	704-713/TGGACAGCAC 742-752/GAATCATGGAT

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
Е – оболочечный белок	967–977/GTGTGGCTTGA 1054–1064/GCCAGATGCCC 1201–1211/TGTGAGGCAAA 1652–1662/GTTCCTGTGGC 1751–1761/TACACAATGTG 2078–2088/CTGACAGTGAT	893–902/TGGGAATGGG 982–995/ATGGCAAACGACAA 1330–1340/GAAAACCATGG 1456–1467/CCAAGGAGTGGA 1471–1484/AACACTGAAGCGTT 1693–1706/GTGGTGGAGTACTC 1708–1721/AGCTCAGTGAAGTT 1843–1853/ACAGTTGTCAT 2170–2180/ATTGGAGGGGT 2242–2258/GGGGGAATGTCTTGAT 2344–2360/GGAGGTGTGCTCGTGTT 2368–2378/ACCAATGTGCA	2279–2288/TGTGGATGGG
NS1 – неструктурный белок	2591–2601/GTGGTGGTGGGA 2817–2826/TGAGAACAAA 2927–2936/CTCTGGATGA	2725–2738/TGGAAAGCATGGGG 2800–2810/ACAAAGGAATG 2812–2821/CCTGATGAGC	

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS1 – неструктур- ный белок	3000–3010/TGCTCATGGCC	2830–2846/TGGAACAGCATGCAAAT	
	3096–3106/AACAGGATACC	2866–2876/ATCACATCAAC	
	3222–3232/TCTGTGAGGAG	2914–2927/GAGTGTGATGGAGC	
	3240–3253/GAGAGTGGCAAGGT	2954–2963/ATGTGGCAGT	
	3321–3340/ TGGTATGCCATGGAAATACG	2968–2978/AGTGACTTGTC	
	3372–3382/TCAATGGTGGT	3010–3026/TGGAAACTTGAGAGGGC	
	3576–3586/GGGATCACATT	3061–3071/GAGACACACAC	
		3169–3182/CAAAACCAGGGACC	
		3353–3365/GGACAGAAAATGG	
		3470–3503/TGGGCCTTCTGGTGATGTTTCT GGCCACCCAGGA	
		3505–3536/GTCCTTCGCAAGAGGTGGACG GCCAGATTGAC	
		3538–3556/ATTCCTGCGGTTTTGGGGG	
		3562–3581/CTTGTGCTGATGCTTGGGGG	
	3607–3620/TATGTGGTGCTAGT		
		3358–3368/TGTTGGTATGG	
		3461–3473/TGGGCCTTCTGGT	
		3475–3515/ GTGTTCTTGGCCACCCAGGAGGTCCTT CGCAAGAGGTGGAC	
		3517–3528/GCCAAGATCAGC	

Продолжение Приложения 3.2

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS2a- – неструктур- ный белок	3697–3706/GAGAGATGGT 3771–3781/TGGAAATGGGG 3864–3876/CTCATGACACAGC AGTGAACCACT	4102–4130/AACCCAAACAAGAAGAGAGG GTGGCCAGC	4018–4028/AAGAAAGGAGC
NS2b- – неструктур- ный белок	4083–4093/AGTGAACCACT 4233–4246/GAATGGAGTGGCTG 4278–4288/GGTGGAGAGGT 4294–4303/TGCGGGTCCG 4314–4324/ATGGGAAACTT	4156–4169/TTGATGTTTGCCAT 4204–4214/ATGTCAATACC 4234–4244/ATGGCAGTGTC 4321–4331/ATCACAGGAAG 4379–4391/TGATTGATGATCC	
NS3- – неструктур- ный белок	4620–4630/ACGATGTGGCA 4791–4801/CATGAGGTGCA 4959–4975/ GTCAGCAGCATTGCTCA	4525–4535/TGGGACACGCC 4642–4655/AATGTTTTCCACAC 4693–4703/GGAGAAGGAAA 4732–4743/GAAGACCGCATA 4777–4787/TGGAATGGAAC 4795–4805GTGCAAGTGAT 4831–4850/GTAAACATCCAGACAAAACC 4918–4928/GGCTCACCCAT 4939–4949/AATGGAGACAT	

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS3- – неструктур- ный белок	5059–5077/ TGGACATGCACCCAGGCTC 5079–5101/ GGGAAGACCCACAGAGTCCTCCC 5112–5122/CGCCAATGCAT 5305–5315/CAGGGGAGACA 5326–5339/GTGGCAATCATGGA 5515–5525/GAGTGGCGTGA 5675–5684/CCAGAGTGAG 5770–5780/ACAAACATCAA 5896–5915/ ATATACTCTGGACAGTGTGA	5248–5258/TCAGCAGTGCA 5275–5285/AATGAAATAGT 5545–5558/TGGAGCAGTGGATA 5629–5639/GCAATGTGCCT 5683–5696/TATGACACAGAATA 5821–5831/GAGGGAGAAGG 5857–5870/CCCATAACCAGTGC 5917–5930/GTTGGAGATGAATA 5977–5990/TGGACAGAGGCAAA 6046–6056/CCAGAGAGGGA	5323 – 5333/CTGATGTCTCC
NS4a- – неструктур- ный белок	6428–6438/ATGCATGAGGA 6507–6516/TGATGGTGCT	6385–6395/ATAGAGGTGCT 6418–6428/ATGGGAAAGAC	

Продолжение Приложения 3.2

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS4a- – неструктур- ный белок	6596–6606/CTGCTGGCCTC 7229–7239/ATGGTGGATGG	6652–6666/TGGGCGGCAGAGGTT 6739–6752/AAACAGAGGTCACA 6802–6815/GGAGTGGTGGCAGC 6856–6868/AAGAGCATGTTTG 6950–6959/TGTATGGGGG 7189–7202/TACATGCTCCCTGG 7252–7265/ATAATGAAGAATGC	6760–6770/GACAACCAGCT
NS5- – неструктур- ный белок	7778–7791/CTTGGATGTGGAAG 7829–7839/GTCATGAGTGT 7968–7980/TCATGTGTGACAT 8159–8172/CTGGTGAGGACCCC	7618–7628/TGGAAGGAAAA 7685–7701/GAGGTGGACCGCACTGA 7703–7713/GCACGCAGGGC 7727–7737/AACATAGTGGG 7802–7815/CCAATAGGAAAAGT 7892–7902/TACACGAAAGG 7904–7914/GGGGCGGGACA 8114–8127/AGAGAGTTCTGCAT	

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS5- – неструктур- ный белок	8525–8535/CTCAGCTGGCC	8309–8319/GGGCGAATGGA	
	8570–8580/ATGACTGACAC	8339–8349/CCAAAGTATGA	
	8657–8670/GTCATCATGAGAGC	8702–8712/AAGGAAGTGCT	
	8720–8729/ATGTGCAGCA	8729–8740/TGGCTGTGGGCC	
	8900–8913/AACATGATGGGCAA	8777–8787/AAGGAAGAATT	
	8966–8979/TGGTACATGTGGCT	8819–8829/GGAGCAGTGTT	
	9046–9055/GTCCAGTGGA	8837–8853/CAGAATCAATGGAGCAC	
	9083–9094/TACCTGGGCTGG	8885–8895/TGGGAGATGGT	
	9183–9192/TAGAGGATGA	8906–8916/AGGGAAAACCA	
	9209–9222/TACATGGAGGGTGA	8948–8958/AACATGATGGG	
	9386–9396/AACATAAAGGT	8960–8970/AAAAGAGAGAA	
	9509–9519/GGAAGAATGCT		
	9536–9546/TGTGTGGTGAG		
	9581–9597/TTTCTGAATGACATGGC		
9725–9735/TGCCGAGACCA			

Кодируемая область	Вирус клещевого энцефалита координаты/консенсус	Вирус японского энцефалита координаты/консенсус	Вирус лихорадки Западного Нила координаты/консенсус
NS5- – неструктур- ный белок		9014–9027/TGGTTCATGTGGCT 9311–9330/AGGCACAAAGTGGTCAAGGT 9362–9376/ATGGACGTGATATCA 9386–9396/CAAAGGGGGAG 9459–9471/TGATGGAGGCTGA 9542–9555/TTTGAGAATGGAGA 9677–9687/GAATGGAAGCC 9737–9759/ TTTCAGGAGATTGTGATGAAAGA 9833–9845/GGATGGAATGTGA 9893–9906/CTATACTTCCATCG 9938–9948/TGCTCAGCAGT 9959–9969/TGGGTGCCCAC 9998–10014/AAAGGAGAGTGGATGAC 10022–10032/GACATGCTGCA 10049–10073/ TGGATTGAAGAAAATGAATGGATGA 10130–10143/GACATCTGGTGTGG 10151–10161/ATCGGAACGCG 10175–10191/TGGGCTGAGAACATCTA 10229–10239/GAAAATTATGT	9652–9662/ATGTCAAAGGT

Заключение

В процессе обобщения материалов по распространению арбовирусных инфекций в Западной Сибири (а все рассмотренные в данной монографии трансмиссивные инфекции вызываются арбовирусами – представителями трех семейств – Флавивирида (*Flaviviridae*), Реовирида (*Reoviridae*) и Буньявирида (*Bunyaviridae*)) авторы столкнулись с обилием и разнообразием (часто противоречивой) информации по Западной Сибири в отношении одних инфекций (КЭ и ОГЛ) при ограниченной или почти отсутствующей – по другим. В некоторых случаях (например в отношении вирусов серогруппы калифорнийского энцефалита) информация ограничена единичными публикациями коллег из других НИИ и собственными материалами авторов. Именно эти обстоятельства объясняют некоторую структурную неоднотипность изложения материалов по отдельным инфекциям и возбудителям, их вызывающим.

Итак, можно с определенной степенью уверенности говорить о том, что в пределах Западной Сибири ареал вируса КЭ характеризуется широким (фактически – повсеместным, за исключением зоны вечной мерзлоты) распространением, мало изменяющимся во времени, при постоянных изменениях границ нозоареала инфекции, что принципиально отличает данную инфекцию от ОГЛ, вызываемую близкородственным ВКЭ возбудителем. Интересен и характер многолетней динамики заболеваемости КЭ, в которой прослеживаются как некие общие тенденции, так и некоторые закономерности, проявляющиеся на административных территориях субъектов Сибирского Ф.О. только в границах ландшафтно-климатических зон. Выявляемая общность динамики заболеваемости, определяемая в первые десятилетия исследований КЭ на лесных территориях региона преимущественно массовыми акарицидными обработками и некоторой временной инерцией после их завершения (полностью, по-видимому, нивелировавшейся к началу 70-х годов прошлого века), в последующие периоды определялась идентичностью или различиями природно-климатических и социальных условий.

Первые определяют эффективность действия биологических факторов, определяющих видовой состав, численность и инфицированность эпидемически значимых видов переносчиков, вторые – интенсивность контактов населения с очаговой территорией. Проведенный анализ материалов допускает возможность превентивного применения прогноза на основании выявляемых биологических закономерностей, определяющих специфичность связи определенных видов переносчиков и хозяев возбудителей из числа членистоногих и позвоночных с определенными генотипами и геновидами возбудителей, и популяционных закономерностей существования самих переносчиков и хозяев. То есть имея представление о взаимоотношениях близкородственных микроорганизмов на микроуровне (в условиях микстинфекции), о специфичности связи отдельных генотипов и геновариантов возбудителей с конкретными видами членистоногих и теплокровных, и об изменениях в населении хозяев и переносчиков, определяемые популяционными закономерностями, вполне возможен прогноз состояния очагов на как минимум на два или более года вперед (последнее определяется продолжительностью цикла развития эпидемически значимых видов переносчиков от имаго до имаго). При этом следует учитывать, что если первая часть проблемы (специфичность взаимоотношений) достаточно универсальна, то популяционные циклы могут различаться даже на достаточно близких территориях, расположенных в разных ландшафтно-климатических зонах.

В отличие от КЭ, эпидемическая активность ОГЛ, относимой к категории «re-emerging infection», проявляется в виде непрогнозируемых эпидемических вспышек, несинхронных в пределах даже рядом расположенных территорий. Сравнение двух периодов эпидемической активности показывает, что произошло изменение сезонности с летне-осенней на осенне-зимнюю. Основным источником инфекции для человека является теплокровное (ондатра), а не членистоногие переносчики (то есть основной путь передачи – нетрансмиссивный). На достаточно большом исследованном материале

подтверждена генетическая близость ВКЭ и ВОГЛ, и именно уровень различий между этими двумя возбудителями, являющимися самостоятельными в видовом отношении вирусами, что дает основание к пересмотру внутривидового статуса генотипов ВКЭ.

Второй важный вопрос, не имеющий на сегодня сколько-нибудь однозначной трактовки, это роль разных генотипов возбудителя и геновариантов отдельных генотипов, в эпидемических циклах. Отдельные данные по КЭ, получаемые на разных территориях РФ, показывают, что в патологии населения могут периодически проявлять активность минорные формы возбудителя несмотря на доминирование одного из нескольких генотипов или геновариантов в природных очагах. С одной стороны это можно объяснить селекцией определенного генотипа (геноварианта) в организме реципиента (в том числе и человека, являющегося тупиком инфекции), с другой стороны механизмы этого процесса непонятны. Виртуальное моделирование процессов сосуществования в принципе объясняет возможные пути существования минорных вариантов вируса и их выхода «на первые позиции» в случае изменения стационарности системы. Однако каким образом это происходит в живом организме – вопрос открыт. Структура и особенности кодирования генома флавивирусов, заключающиеся в наличии участков в разных частях генома с коррелированными (связанными) заменами нуклеотидов накладывают жесткие ограничения на произвольные мутационные изменения, так как это может привести к нарушению вторичной и третичной структуры РНК. Изменения в ключевых точках влекут за собой цепную реакцию, «назначение» которой – максимально компенсировать возникающие изменения и вернуть структуру максимально близко к оптимуму в данных условиях. Вопрос о том, каковы допустимые изменения в геноме вируса, вызываемые сменой хозяина (холонокровное членистоногое – теплокровное позвоночное), остается открытым. Отчасти это связано с ограниченными возможностями полногеномного секвенирования вирусов при проведении экспериментов «in vivo».

Следующий вопрос связан с проблемой сосуществования разных видов вирусов с различным систематическим статусом в условиях сочетанности очагов и одновременного использования одних и тех же особей переносчиков и хозяев (то есть при микстинфицировании). Анализ материалов показал, что в условиях Западной Сибири этот феномен наблюдается как минимум при сочетанности очагов ОГЛ, КЭ и ЛЗН в регионе. В отношении вируса кемеровской клещевой лихорадки и ВКЭ это явление зарегистрировано в единичных случаях, хотя территориально природные очаги данных двух инфекций как правило полностью перекрываются. В случае микстинфекции ВЗН и ВОГЛ или ВКЭ элиминируется первый. Это явление в сочетании с особенностями сезонной активности кровососущих комаров – переносчиков ЛЗН в пределах основного ареала возбудителя как на территории РФ, так и за её пределами, создает условия для исключения регулярного выноса возбудителя в популяции комаров и, соответственно, для возникновения эпидемических вспышек в регионе, несмотря на регулярный занос возбудителя перелетными птицами и возможность его внедрения в местные экосистемы. С другой стороны, в особенностях кодирования генома ВЗН заложен механизм переключения на другие группы эпидемически значимых переносчиков, а именно – иксодовых клещей. Проведенные исследования подтверждают эту возможность, и на сегодня можно говорить о том, что в условиях Западной Сибири эпидемическая активность ЛЗН осуществляется за счет орнитофильных видов иксодовых клещей (прежде всего таежного клеща и *I.pavlovskiyi*).

Вирусы серогруппы калифорнийского энцефалита, имеющие в Западной Сибири крайне широкое распространение, занимают несколько обособленное положение вероятно из-за abortивного характера инфекционного процесса в организме теплокровных. Не исключено, что ведущее значение в регионе в поддержании циркуляции этой группы возбудителей принадлежит вертикальной передаче, в результате чего вирус передается трансовариально от самки комара потомству.

В пользу этого говорят факты изоляции штаммов вирусов данной группы от личинок и куколок комаров.

Работая над текстом данной монографии мы убедились, что крайне полезно возвращаться к архивным материалам, даже если они были многократно использованы в ходе предшествующих исследований, с целью его переосмысления и изменения подходов к анализу уже с позиций современных представлений о структуре очагов, генетической неоднородности возбудителей и т.п. Появление новых технологических возможностей по обработке и анализу материалов дает интересные, порой неожиданные результаты.

С другой стороны, обращено внимание авторов на необоснованное снижение интереса исследователей к биологическим методам исследования, подразумевая под этим и весь комплекс традиционных вирусологических, иммунологических и т.д. методов, и непропорциональное смещение акцентов в область молекулярной биологии. Безусловно это – крайне удобный, а применительно к вирусам – единственный метод экспресс-оценки любых генетических изменений в этой группе живых существ. Однако анализ опубликованных материалов, как и результатов собственных исследований, убеждает авторов, что без проведения достаточно трудоемких, но необходимых экспериментов, направленных на изучение селективных изменений в геноме вирусов при смене хозяев, с применением полногеномного секвенирования, ожидать существенного прорыва в понимании микроэволюции вирусов не приходится.

Авторы будут считать выход данной монографии успешным, если при ознакомлении с текстом внимание специалистов, работающих в области природной очаговости инфекционных болезней, будет привлечено к озвученным проблемам.

Литература

1. Абашкин С. А. Циклы динамики численности ондатры на юго-востоке Западной Сибири и их прогноз / Абашкин С. А. // В кн.: Акклиматизация охотничьих животных в СССР. – Минск: Урожай, 1978. – С. 182–184.
2. Алифанов В. И. Итоги десятилетнего изучения фауны гамазовых клещей Омской области в связи с их значением в эпизоотологии туляремии и некоторых других инфекций // В кн.: Вопросы эпидемиологии и профилактики клещевого энцефалита, природноочаговых риккетсиозов, туляремии и лептоспирозов. – Омск, 1961, Сб. 8, С. 13–15.
3. Алифанов В. И. Об экологии и распространении клещей *Ixodes apronophorus* P. Sch. в Западной Сибири в связи с их значением как переносчиков туляремии // Зоол. журн. 1965. 44 (2) : С. 291–293.
4. Алифанов В. И., Закоркина Т. Н., Нецкий Г. И., Федоров В. Г. Экспериментальные данные к вопросу о роли гамазовых клещей в передаче вируса клещевого энцефалита и омской геморрагической лихорадки // Мед. паразитология и паразитарн. болезни. – 1961. №1. – С. 24–26.
5. Алифанов В. И., Нецкий Г. И. Иксодовые клещи Омской области // Тр. Омского науч.-исслед. ин-та эпидемиол., микробиол. и гигиены. Вып. 2. Омск, 1954. С. 53–62.
6. Алифанов В. И., Нецкий Г. И., Мальков Г. Б., Богданов И. И., Иванов Д. И., Давыдова М. С., Иголкин Н. И., Столбов Н. М., Малюшина Е. П., Федоров В. Г., Попов В. В., Зуевский А. П., Белан А. А., Евстигнеева Н. С., Апенкина Н. Н., Гуковская В. М., Сумароков Ф. С., Таранюк Г. С., Морозова Ю. А., Коклягина А. Т., Аркатовский П. А., Чигирик Е. Д., Логиновский Г. Е. Эколого-фаунистические комплексы иксодовых клещей в Западной Сибири // Вопр. инфекц. патологии. Вып. 2. Омск, 1970. С. 82–84.
7. Амосов А. Д. Клещевой энцефалит: Информационно-методическое пособие / А. Д. Амосов. – Кольцово: Ин-т средств мед. диагностики ЗАО «Вектор-Бест», 2006. – 115 с.
8. Анищенко В. С., Вадивасова Т.Е. Лекции по нелинейной динамике. М. – Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2011. – 516 с.
9. Антонов В. А., Смоленский В. Ю., Путинцева Е. В., Липницкий А.В., Смелянский В. П., Яковлев А. Т., Мананков В. В., Погасий Н. И., Красовская Т. Ю. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2011 году на территории Российской Федерации и прогноз ее развития // Пробл. особо опасных инф. – 2012. – №1 (111). – С. 17–21.
10. Атлас распространения бактериальных и вирусных зоонозных инфекций в Казахстане. – Алматы, 2010. – 122 с.
11. Ахрем-Ахремович Р. М. Весенне-осенняя лихорадка в Омской области / Труды ОмГМИ, 1948, №13, Вып. 1, С. 3–43.
12. Ахрем-Ахремович Р. М. К вопросу о геморрагических лихорадках / Труды ОмГМИ, 1959, вып. 25. – С. 107–116.

13. Балашов Ю. С. Паразито-хозяйственные отношения членистоногих с наземными позвоночными. Л.: Наука, – 1982. – 320 с. [Тр. Зоол. ин-та АН СССР, т. 97].

14. Балашов Ю. С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука, – 1998. – 287 с.

15. Балашов Ю. С. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. СПб: Наука, 2009. – 358 с.

16. Баркова Э. А., Мелентьева Л. А. Материалы вирусологического изучения эпизоотии среди ондатр в Крутинском р-не Омской области // Труды Омского НИИЭМГ. – Омск, 1959, Сб. №6, – С. 23–27.

17. Бахвалова В. Н., Добротворский А. К., Матвеева В. А., Матвеев Л. Э., Панов В. В., Морозова О. В. Роль мелких млекопитающих в поддержании природного очага КЭ на юге Западной Сибири // В.: Актуальные аспекты природноочаговых болезней: материалы межрегиональной научно-практической конференции. – Омск, 2001. С. 51–53.

18. Беззубова В. П. Иксодовые клещи Новосибирской области // Природно-очаговые болезни Западной Сибири. Новосибирск, 1965. – С. 184–192.

19. Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М.: Наука, 1970. – 499 с.

20. Беклемишев В. Н. Экология малярийного комара. М.: Медгиз, 1944. – 626 с.

21. Белан А. А., Билалова Э. З., Дубов А. В., Катин А. А., Янцен М. М. Выделение вируса клещевого энцефалита из клещей *Dermacentor pictus* Herm. и *Ixodes persulcatus* P.Sch. в стадии их совместного обитания // В кн.: Клещевой энцефалит, кемеровская клещевая лихорадка, геморрагические лихорадки и другие арбовирусные инфекции. – М., 1964. – С. 228–229.

22. Белан А. А., Катин А. А., Дубов А. В. К экологии основных переносчиков вируса клещевого энцефалита в Тюменской области // Второе акаролог. совещ.: Тез. докл. Киев: Наукова думка, 1970. – Ч. 1. – С. 53–54.

23. Белевич О. Э., Юрченко Ю. А. Население личинок кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) в водоемах Северной Кулунды // Паразитология. – 45 (3). – 2011. – С. 182–193.

24. Беликов С. И., Леонова Г. Н., Кондратов И. Г., Романова Е. В., Павленко Е. В. Анализ геномов штаммов вируса клещевого энцефалита, обладающих различной вирулентностью для человека // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010, №3. – С. 23–26.

25. Белявская Н.А. Персистенция ВКЭ на фоне пассивной иммунизации (Экспериментальные данные). Автореф. Дисс... канд. мед. наук., Томск, 1987. – 14 с.

26. Беляева А. П., Чумаков М. П. Изучение случаев лабораторного заражения людей вирусом омской геморрагической лихорадки /

Эндемические вирусные инфекции (геморрагические лихорадки): труды и-та полиомиелита и вирусных энцефалитов, 1965. – Т. 7. – С. 396–408.

27. Березин В. В., Семенов Б. Ф., Решетников И. А., Башкирцев В. Н. Значение птиц в естественном цикле арбовирусов, передаваемых комарами, в дельте Волги // В кн.: Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов. Наука, СО, Новосибирск, 1972. С. 310–313.

28. Богданов И. И. Некоторые особенности биологии клеща *Dermacentor pictus* Herm. в Западной Сибири // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. – 1968. – 37 (4). – С. 456–462.

29. Богданов И. И. Некоторые вопросы эволюции гамазовых клещей // Экология и география членистоногих Сибири. – Новосибирск, 1987. – С. 207–208.

30. Богданов И. И. Тип населения переносчика, как индикатор условий существования возбудителя природноочаговых инфекций // Природноочаговые болезни человека. – Омск, 1990. – С. 27–32.

31. Богданов И. И. Иксодовые клещи (Acarina, Parasitiformes, Ixodidae) Западной Сибири. Сообщение 1. Видовой состав // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 4. – Омск : Изд-во ОмГПУ, 1999. – С. 161–165.

32. Богданов И. И. Иксодовые клещи (Acari, Parasitiformes, Ixodidae) Западной Сибири. Сообщение 2. Структура ареалов многочисленных и обычных видов клещей // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 5. Омск : Изд-во ОмГПУ, 2000. – С. 200–204.

33. Богданов И. И. Иксодовые клещи (Ixodidae, Parasitiformes) Западной Сибири. Сообщение III. *Dermacentor nuttalli* Ol. в Западной Сибири // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 6. – Омск : Изд-во ОмГПУ, 2001. – С. 229–231.

34. Богданов И. И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение IV. Сравнительная характеристика региональной экологии клещей рода *Dermacentor* Koch и их жизненных схем // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 7. Омск : Изд-во ОмГПУ, 2003. – С. 214–221.

35. Богданов И. И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение 5. Сравнительная характеристика региональной биологии и экологии клещей рода *Ixodes* Latr. и их жизненных схем // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 8. Омск : Изд-во ОмГПУ, 2004. – С. 79–88.

36. Богданов И. И. Иксодовые клещи (Ixodidae, Parasitiformes) Западной Сибири. Сообщение VI. *Haemaphysalis concinna* Koch В Западной Сибири // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 9. Омск : Изд-во ОмГПУ, 2005. – С. 173–175.

37. Богданов И. И. Иксодовые клещи Западной Сибири. Сообщение XI. Находки экзотических видов клещей в Западной Сибири и на прилегающих территориях // Естественные науки и экология : Межвузовский сб. науч. тр. : Ежегодник. Вып. 12. Омск, 2008. – С. 81–84.

38. Богданов И. И., Волынец Л. В. Некоторые особенности экологии кровососущих комаров в очагах омской геморрагической лихорадки южной лесостепи Западной Сибири // Вопросы инфекционной патологии. Природноочаговые болезни: Мат-лы юбил. научн. конф. – Омск, 1971. – С. 79–81.

39. Богданов И. И., Шутеев М. М. Многолетние изменения видового состава эктопаразитов и нидиколов мелких млекопитающих в природных очагах омской геморрагической лихорадки // Природноочаговые болезни человека (вопросы эпидемиологии и профилактики). – Омск, 1981. – С. 203–211.

40. Богданов И. И., Якименко В. В., Малькова М. Г. Иксодовые клещи (Ixodidae, Parasitiformes, Acarina) Омской области // Естественные науки и экология: Межвузовский сб. науч. тр.: Ежегодник. Вып. 14. – Омск: Изд-во ОмГПУ, 2010. – С. 173–185.

41. Боржек Б.П. Кожевниковская эпилепсия – последствие КЭ // В кн.: Вопр. эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. Труды Томского НИИВС и ТМИ. Томск: Изд-во Томского университета, 1964. – Т. XV. – С. 75–79.

42. Бусыгин Ф. Ф. О пространственной структуре ареала вируса Западного Нила // Экология вирусов: Мат-лы X симпозиума. Баку, 1976. – С. 102–103.

43. Бусыгин Ф. Ф. Омская геморрагическая лихорадка. Омск, 2014. – 159 с.

44. Бусыгин Ф. Ф., Богданов И. И., Якименко В. В. Структура ареала вируса Западного Нила и особенности его экологии в Сибири // Природноочаговые болезни человека. – Омск, 1986. – С. 35–42.

45. Бусыгин Ф. Ф., Богданов И. И., Якименко В. В. Структура ареала вируса Западного Нила и особенности экологии его в Сибири. // Природно-очаговые болезни человека. – Омск, 1989. – С. 35–42.

46. Бусыгин Ф. Ф., Цаплин И. С. Серологические подтверждения возможности заноса вирусов киассанурской лесной болезни и Западного Нила в зону лесостепных озер и пойму р.Иртыш в Западной Сибири // Вопросы медицинской вирусологии. Арбовирусы. М., 1971. – Вып. 2. – С. 144–146.

47. Бусыгин Ф. Ф., Цаплин И. С., Лебедев Е. П. Современное состояние эпидемического процесса и эпидемиологическая характеристика очагов омской геморрагической лихорадки // Вопросы инфекционной патологии (Эпидемиология и профилактика омской геморрагической лихорадки). – Омск, 1975. – С. 32–45.

48. Бусыгин Ф. Ф., Якименко В. В., Калмин О. Б., Богданов И. И., Матущенко А. А. Итоги разработки проблемы арбовирусов в Западной Сибири // Природноочаговые болезни человека (материалы юбилейной конференции) – Омск, 1996. – С. 18–30.

49. Бусыгин Ф. Ф., Якименко В. В., Калмин О. Б., Богданов И. И. Современное состояние и прогнозирование эпидемиологической обстановки в антропоически трансформированных очагах омской геморрагической лихорадки // В кн.: Природноочаговые инфекции в России: современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения. – Омск, 1998. – С. 13–14.

50. Бутвиловский А. В. Изучение стратегии кодирования белков / А. В. Бутвиловский, В. Э. Бутвиловский, Е. А. Черноус // Медицинский журнал. – 2009. (2). – С. 24–7.

51. Бутенко А. М., Чумаков М. П., Столбов Л. Н. // В кн.: Эпидемиологические вирусные инфекции. М., 1968. – С. 394–402.

52. Верховина М. М. Молекулярно-эпидемиологическая и генетическая характеристика региональной популяции вируса клещевого энцефалита Восточной Сибири: Дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2000. – 163 с.

53. Верховина М. М., Козлова И. В., Демина Т. В., Джигоев Ю. П., Дорощенко Е. К., Лисак О. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М., Ткачев С. Е., Злобин В. И. Молекулярно-эпидемиологическая и эколого-географическая характеристика вируса клещевого энцефалита в Восточной Сибири // В: «Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе» под ред. В. В. Власова, В. Е. Репина. – Новосибирск, 2011. – С. 84–108.

54. Веселов Ю. В., Оберт А. С., Шестерикова А. А. Клинико-эпидемиологическая характеристика КЭ в Алтайском Крае // Материалы межинститутской научной конференции по изучению природно-очаговых заболеваний Сибири и дальнего Востока. Томск: Изд-во Томского университета, 1962. – С. 39–40.

55. Виноградова Е. Б. Городские комары, или «Дети подземелья» / Е. Б. Виноградова // Серия «Разнообразие животных». Вып. 2. – М.-СПб.: Т-во научных изданий КМК, 2004. – 96 с.

56. Виноградова Е. Б. Городской комар. Природа. 2003. № 12. – С. 3–9 (http://vivovoco.rsl.ru/VV/JOURNAL/NATURE/12_03/CULEX.HTM)

57. Власов В. В. Эпидемиология: учебное пособие для вузов / В. В. Власов М.: ГЭОТАР-МЕД. – 2004. – С. 78–96.

58. Волкова Л. И. Клинические варианты и особенности течения хронического клещевого энцефалита на Среднем Урале \ Волкова Л. И. \ \ Медицинская вирусология. – М., 2009. – Т. 26. – С. 57–72.

59. Волюнец Л. В. Вирусологическая характеристика штаммов вирусов, изолированных от комаров в лесостепных очагах омской геморрагической лихорадки Западной Сибири // Вопросы инфекционной патологии: Омск, 1970. Вып. 2. – С. 225–226.

60. Волынец Л. В., Богданов И. И. Изучение восприимчивости комаров *Mansonia richiardii* к вирусу омской геморрагической лихорадки // Вопросы инфекционной патологии. Природноочаговые болезни: Мат-лы юбил. научн. конф. Омск, 1971. – С. 81–84.

61. Волынец Л. В., Богданов И. И. Экспериментальное заражение комаров *Mansonia richiardii* Fic. вирусом омской геморрагической лихорадки // Биологическая и эпизоотологическая характеристика очагов омской геморрагической лихорадки Западной Сибири. – Новосибирск, 1974. – С. 126–130.

62. Волынец Л. В., Богданов И. И., Нецкий Г. И., Федорова Т. Н. О роли кровососущих комаров в передаче арбовирусов в зоне лесостепных озер Западной Сибири // Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов: Мат-лы 5-го симпозиума по изучению роли перелетных птиц в распространении арбовирусов. – Новосибирск, 1972. – С. 365–367.

63. Волынец Л. В., Богданов И. И., Федорова Т. Н., Нецкий Г. И. Повторное выделение вирусов группы клещевого энцефалита от кровососущих комаров в лесостепных очагах омской геморрагической лихорадки Западной Сибири // Арбовирусы. – М., 1964. – Вып. 2. – С. 184.

64. Волынец Л. В., Федорова Т. Н. Характеристика штаммов вируса, изолированного от кровососущих комаров в лесостепных очагах омской геморрагической лихорадки в Западной Сибири: М-лы 15 научной сессии ИПВЭ. Клещевой энцефалит, геморрагические лихорадки и комариные арбовирусные инфекции. – М., 1968. – Вып. 3. – С. 136.

65. Вотяков В. И., Злобин В. И., Мишаева Н. П. Клещевые энцефалиты Евразии (вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции). – Новосибирск: Наука, 2002. – 438 с.

66. Вьюгин В. В., Гельфанд М. С., Любецкий В. А. Согласование деревьев: реконструкция эволюции видов по филогенетическим деревьям генов. / В. В. Вьюгин, М. С. Гельфанд, В. А. Любецкий // Молекулярная биология. – Т. 36. – С. 807–816.

67. Гаврилов Э. И., Шукуров Э. Д., Юрлов К. Т., Остапенко А. Н. Территориальное размещение на зимовке разных популяций грачей в Среднеазиатско-Западносибирском регионе // В кн.: Миграции птиц в Азии. – Новосибирск: Наука, 1986. – С. 109–120.

68. Гагарина А. В. Спонтанное носительство вируса омской геморрагической лихорадки клещом *Dermacentor marginatus* Sulz. // Труды Омского НИИЭМГ. – Омск, 1957. – Сб. № 4. – С. 15–21.

69. Гагарина А. В. Вирусологическая характеристика заболеваний, сходных с клещевым энцефалитом и омской геморрагической лихорадкой, в степном районе Омской области // Труды ОГНИИЭМГ. – Омское книжное издательство, 1955. – № 3. – С. 7–16.

70. Гагарина А. В., Зимина В. Е., Равдоникас О. В. О естественной зараженности ондатр вирусом омской геморрагической лихорадки // Труды Омского НИИЭМГ : Омск, 1958. – Т. № 5. – С. 31–5.

71. Гагарина А. В., Сиземова Г. А., Зудов В. А. Экспериментальная геморрагическая лихорадка ондатр // Труды Омского НИИЭМГ. – Омск, 1954. – Т. № 2. – С. 29–33.

72. Галимов В. Р. Биологические особенности возбудителя КЭ в западной части Западной Сибири // В кн.: Условия существования очагов КЭ в Западной Сибири. – Ленинград, 1974. – С. 5–41.

73. Галимов В. Р. Особенности природных очагов КЭ в западной части Западной Сибири. Автореф. дисс... канд. биол. наук., Новосибирск, 1975. – 23 с.

74. Глащинская-Бабенко Л. В. *Ixodes lividus* Koch. как представитель норových клещей-иксодид // Эктопаразиты. М.: Изд-во МГУ, 1956. – Вып. 3. – С. 21–45.

75. Горбунов Н. С. Материалы по ландшафтной эпидемиологии клещевого энцефалита в Алтайском крае // География природноочаговых болезней Алтайского края. – Л., 1976. – С. 9–15.

76. Горностаева Р. М. Список комаров (Сем. Culicidae) Европейской части России // Паразитология. – 34 (5). – 2000 а. – С. 477–485.

77. Горностаева Р. М. Список комаров (Сем. Culicidae) Азиатской части России // Паразитология. – 34 (6). – 2000 б. – С. 428–433.

78. Горностаева Р. М. Анализ современных данных о фауне и ареалах малярийных комаров (Diptera: Culicidae: Anopheles) на территории России // Паразитология. – 37 (4). – 2003. – С. 298–305.

79. Горностаева Р. М. К ревизии комаров подрода *Aedes* (Diptera, Culicidae) Палеарктики // Паразитология. 39 (6). 2005. С. 457–507.

80. Горностаева Р. М. Новый список видов комаров (Diptera: Culicidae) России // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. – 2009. – № 1. – С. 60–62.

81. Горностаева Р. М., Данилов А. В. Об ареалах малярийных комаров (Diptera, Culicidae: Anopheles), не входящих в комплекс *maculipennis* на территории России // Паразитология. – 35 (5). – 2001. – С. 394–405.

82. Горностаева Р. М., Данилов А. В. Об ареалах малярийных комаров (Diptera, Culicidae: Anopheles) комплекса *maculipennis* на территории России // Паразитология. – 36 (1). – 2002. – С. 33–47.

83. Гурбо Г. Д. О длительности эпизоотий ОГЛ среди ондатр // Гурбо Г. Д., Дубов А. В., Галимова Э. З., Галимов В. Р., Филатов В. Г., Катин А. А., Пустовалова В. Я., Костылев С. Г. / В кн.: Условия существования очагов КЭ в Западной Сибири. – Ленинград, 1974. – С. 92–94.

84. Гуцевич А. В., Мончадский А. С., Штакельберг А. А. Фауна СССР. Насекомые. Двукрылые. Комары, семейство Culicidae. – Л.: Наука. 1970. – 364 с. [Фауна СССР. – 3 (4)].

85. Давыдова М. С. Гамазовые клещи сем. Parasitidae Западной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1976. – 200 с.

86. Давыдова М. С., Богданов И. И. Гамазовые клещи Заполярья Западной Сибири // Природноочаговые зооантропонозы на Крайнем Севере. – Новосибирск, 1978. – С. 43–52.

87. Давыдова М. С. Лукин А. М. Ландшафтно-географическое распределение иксодовых клещей // Биологическое районирование Новосибирской области (в связи с проблемой природноочаговых инфекций). – Новосибирск: Наука, 1969. – С. 250–264.

88. Давыдова М. С., Никольский В. В. Гамазовые клещи Западной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1986. – 166 с.

89. Демина Т. В. Вопросы генотипирования и анализ генетической variability вируса клещевого энцефалита: автореф. дисс. докт. биол. Наук. – Иркутск, 2013. – 46 с.

90. Демина Т. В., Джигоев Ю. П., Козлова И. В., Верховина М. М., Ткачев С. Е., Дорощенко Е. К., Лисак О. В., Парамонов А. И., Злобин В. И. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов и возможный сценарий их формирования // Вопросы вирусологии. – 2012. – №4. – С. 12–19.

91. Демихов В. Г. Исходы и прогноз заболеваний, вызываемых вирусами Инко и Тягиня // Вопр. вирусологии. – 1995. – №2. – С. 72–4.

92. Демихов В. Г., Чайцев В. Г. Неврологическая характеристика заболеваний, вызываемых вирусами Инко и Тягиня // Вопр. Вирусологии. – 1995. – №1. – С. 21–25.

93. Дерябин П. Г., Щелканов М. Ю., Прилипов А. Г., Громашевский Л. В., Львов Д. К. Эпидемические свойства штаммов вируса Западного Нила, принадлежащих различным генотипам // В кн.: Актуальные проблемы здоровья населения Сибири: гигиенические и эпидемиологические аспекты (м-лы конф.). – Омск, 2004. – Т. 2. – С. 183–184.

94. Дживанян Т. И., Королев М. Б., Карганова Г. Г., Лисак В. М., Каштанов В. М., Чупринская М. В. Изменение зависимых от хозяина характеристик вируса КЭ при его адаптации к клещам и переадаптации к белым мышам // Вопр. вирусологии. – 1988. – №5. – С. 589–595.

95. Дживанян Т. И., Карганова Г. Г., Кондратьев Я. Ю., Лашкевич В. А. Изменение антигенной специфичности вируса клещевого энцефалита при смене хозяев // Актуальные проблемы медицинской вирусологии: м-лы конф. – М., 1999. – Т. 2. – С. 23.

96. Дживанян Т. И., Лашкевич В. А., Чупринская М. В., Баннова Г. Г., Сарманова Е. С. Дальнейшее изучение связи ДС-маркера в комплексе вируса клещевого энцефалита с переносчиками // Тр. ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. – 1974. – Т. 22, вып. 2. – С. 79–86.

97. Дмитриенко Н. К., Приходько Е. Т. Очаги клещевого энцефалита зоны сухих степей (полупустыни) // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – М.: Медицина, 1967. – №3, Т. 36. – С. 276–279.

98. Добротворский А. К. Распределение и многолетняя динамика численности таежного клеща в северной лесостепи Приобья. Автореф. дисс... канд. биолог. наук., Новосибирск, 1992. – 21 с.

99. Догель В. А. Курс общей паразитологии. – Л., 1947. – 372 с.

100. Дроздова Ю. В. Численность и ландшафтное распределение иксодовых клещей северо-восточного Алтая // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае (северо-восточная часть). – Новосибирск: Наука, 1967. – С. 21–29.

101. Дрокин Д. А., Злобин В. И., Калмин О. Б., Мансуров П. Г., Якименко В. В. Внутри-видовая дифференциация штаммов вируса КЭ по комплементсвязывающему растворимому антигену: Тез. докл. конф.: Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики КЭ. – Иркутск, 1990. – С. 5–6.

102. Дрокин Д. А., Злобин В. И., Карганова Г. Г. и др. Изменение геномов штаммов вируса клещевого энцефалита в результате пассажей на мышях // Вопр. вирусол. – 1994. – №4. – С. 160–162.

103. Дубровский Ю. А., Горчаковская Н. Н., Преображенская Н. К. Население позвоночных животных и их эктопаразитов в природных очагах КЭ Салаирского кряжа и некоторые закономерности изменений численности таежных клещей // Межобластная научно-практическая конференция по природно-очаговым инфекциям: тез. докл.: Тюмень, 1961. – С. 55–57.

104. Дунаев Н. Б., Федорова Т. Н., Маренко В. Ф. Омская геморрагическая лихорадка у ондатр // В кн.: Вопр. Инфекционной патологии. – Омск, 1975. – С. 67–70.

105. Ефимов В. М., Галактионов Ю. К., Шушпанова Н. Ф. Анализ и прогноз временных рядов методом главных компонент. – Новосибирск: Наука, 1988. – 69 с.

106. Закоркина Н. Т. Характеристика очага КЭ в Омской области // Межинститутская научная конф. По заболеваниям с природной очаговостью, посвященная 50-летию Томского НИИВС: тез. докл.: Томск, 1956. – С. 32–33.

107. Заломаев Я. Ф. Клинико-эпидемиологическая характеристика КЭ в юго-восточных районах Новосибирской области // В кн.: Нейроинфекционные заболевания Западной Сибири. – Новосибирск, 1970. – С. 84–88.

108. Западная Сибирь /отв. ред. Г. Д. Рихтер. М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 488 с. [Серия «Природные условия и естественные ресурсы СССР»].

109. Заречная С. Н. Избранные лекции по медицинской энтомологии. – М.: Национальная организация дезинфекционистов, 2010. – 168 с.

110. Земская А. А. Типы паразитизма гамазовых клещей // Мед. паразитол. и паразитарн. Болезни. – 1969. – Т. 38. – Вып. 4 – С. 393–401.

111. Земская А. А. Паразитические гамазовые клещи и их медицинское значение. – М.: Медицина, 1973. – 167 с.

112. Зильбер Л. А. Весенний (весенне-летний) эндемический КЭ // Сов. медицина. – 1939. – № 23. – С. 11–15.

113. Злобин В. И., Беликов С. И., Джюев Ю. П., Демина Т. В., Козлова И. В., Верховина М. М., Данчинова Г. А., Адельшин Р. В., Дорощенко Е. К., Кулакова Н. В. Новая концепция природной генетической variability вируса клещевого энцефалита // Тихоокеанский медицинский журнал. – Владивосток, 2001 б. – № 2 (7). – С. 75–78.

114. Злобин В. И., Беликов С. И., Джюев Ю. П., Демина Т. В., Козлова И. В. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита. – Иркутск, 2003. – 271 с.

115. Злобин В. И., Верховина М. М., Демина Т. В., Джюев Ю. П. и др. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии. – 2007, (6). – С. 4–13.

116. Злобин В. И., Демина Т. В., Мамаев Л. В., Бутина Т. В., Беликов С. И., Горин О. З., Джюев Ю. П., Верховина М. М., Козлова И. В., Воронко И. В., Адельшин Р. В., Грачев М. А. Анализ генетической variability штаммов вируса клещевого энцефалита по первичной структуре фрагмента гена белка Е // Вопросы вирусологии. – 2001а. – №1. – С. 12–16.

117. Злобин В. И., Дрокин Д. А., Мансуров П. Г., Калмин О. Б. Внутривидовая дифференциация штаммов вируса клещевого энцефалита по комплементсвязывающему растворимому антигену // Вопросы вирусологии. – М., 1991. – № 1. – С. 24–27.

118. Злобин В. И., Погодина В. В., Дрокин Д. А., Газо М. Х., Бочкова Н. Г., Джюев Ю. П., Демина Т. В., Беликов С. И., Козлова И. В., Верховина М. М. Специфическое определение флавивирусов методом молекулярной гибридизации с синтетическими дезоксиолигонуклеотидными зондами // Вопросы вирусологии. – №3. – 2003. – С. 23–27.

119. Злобин В. И., Рудаков Н. В., Малов И. В. Клещевые трансмиссивные инфекции. – Новосибирск: Наука. 2015. – 224 с.

120. Зуевский А. П. Гамазовые клещи, связанные с мелкими млекопитающими в Тюменской области и их значение в природных очагах туляремии: автореф. дисс... канд. биол. наук. – Новосибирск, 1981. – 22 с.

121. Зулаева, Л. П., Яфаев, Р. Х. Эпидемиология. – М.: Медицина, 2007. – С. 113–165.

122. Иванов Д. И. Географическое распространение клеща *Ixodes apronophorus* // Вопр. инфекц. патологии. – Омск, 1971. – С. 258–263.

123. Иванов Д. И. Клещ *Ixodes apronophorus* P. Sch., некоторые особенности его экологии и эпизоотологическое значение в очагах туляремии северной лесостепи Омской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 1975. – 24 с.

124. Иванов Д. И., Алифанов В. И., Равдоникас О. В. К вопросу изучения экологии клещей *Ixodes apronophorus* и их эпизоотологического значения в очагах туляремии северной лесостепи Омской области // Экология водяной крысы и борьба с ней в Западной Сибири. – Новосибирск, 1971. – С. 235–243.

125. 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. – 21 с.

126. Иголкин Н. И. Комплексы эктопаразитов мелких млекопитающих юго-восточной части Западной Сибири. – Томск : Изд-во Томского ун-та, 1978. – 239 с.

127. Иголкин Н. И., Давыдова М. С., Семенов П. В., Попов В. В. Иксодовые клещи, их размещение, численность и эпидемиологическое значение в пойме Оби // Биологические ресурсы поймы Оби. – Новосибирск : Наука, 1972. – С. 292–305.

128. Калабухина Л. В. Заболевания, вызванные вирусами серогруппы калифорнийского энцефалита (Клиника, диагностика, исходы). Автореф. дисс... докт. мед. наук. – М., 1994. – 62 с.

129. Калабухина Л. В., Львов Д. К., Бутенко А. М. и др. Заболевания в России, ассоциированные с вирусами серогруппы калифорнийского энцефалита // Калабухина Л. В., Львов Д. К., Бутенко А. М. и др. // Итоги науки и техники. Вирусология. – М., 1992. – Т. 27. – С. 108–112.

130. Калмин О. Б., Якименко В. В., Дрокин Д. А., Богданов И. И., Бусыгин Ф. Ф. Изоляция вирусов комплекса клещевого энцефалита из кровососущих комаров на юге Западной Сибири // Природноочаговые болезни человека. – Омск, 1991 – С. 91–95.

131. Калмин О. Б., Бусыгин Ф. Ф., Якименко В. В., Богданов И. И. Кровососущие комары, как переносчики вируса омской геморрагической лихорадки // Природноочаговые болезни человека: Респ. сб. научных трудов. – Омск, 1996 а. – С. 123–127.

132. Калмин О. Б., Якименко В. В., Дрокин Д. А., Богданов И. И., Бусыгин Ф. Ф. Изоляция вирусов комплекса клещевого энцефалита из кровососущих комаров на юге Западной Сибири // Природноочаговые болезни человека: Респ. сб. научных трудов. – Омск, 1996 б. – С. 91–95.

133. Калмин О. Б. Совершенствование системы эпидемиологического надзора за омской геморрагической лихорадкой в связи с особенностями возбудителя: автореф. дисс. канд. мед. наук. – Омск, 1995. – 24 с.

134. Карань Л. С., Булгакова Т. А., Федорова М. В., Лопатина Ю. В., Погодина В. В., Маленко Г. В., Левина Л. С., Журавлев В. И., Платонова О. В., Оганесян Ю. В., Аршба Т. Е., Лазоренко В. В., Фролов А. Ю., Шипулин Г. А., Платонов А. Е. Детекция и генотипирование

вируса Западного Нила на материале Волгоградской (1999–2005 годы) и Астраханской (2004–2005 годы) областей // Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Материалы расширенного пленума проблемной комиссии. – М., 2007. – С. 73–78.

135. Карань Л. С., Якименко В. В., Матущенко А. А., Шипулин Г. А., Платонов А. Е. Кто есть кто среди вирусов комплекса клещевого энцефалита: генетическое исследование. В: Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней. Под ред. В. В. Кутырева. – Саратов, РосНИПЧИ «Микроб», 2003. – С.89–92.

136. Карань Л. С., Якименко В. В., Матущенко А. А., Шипулин Г. А., Платонов А. Е. Вопросы варибельности и филогенетических отношений вируса ОГЛ с другими вирусами комплекса клещевого энцефалита // Генодиагностика инфекционных болезней. – М., 2004. – Т. 2. – С. 37–45.

137. Карганова Г. Г. Генетическая варибельность вируса клещевого энцефалита: фундаментальные и прикладные аспекты // В сб.: Изучение эволюции вирусов в рамках проблем биобезопасности и социально значимых вирусных инфекций / ред. Д. К. Львов, Л. В. Урываев. – М., 2011. – С. 190–199.

138. Карганова Г. Г., Дживанян Т. И., Локтев В. Б., Ляпустин В. Н., Гмыль Л. В., Кондратьева Я. Ю., Бахмутов Д. В., Протопопова Е. В., Лашкевич В.А. Изменение структурных белков Е и С вируса клещевого энцефалита при его адаптации к клещам// Актуальные проблемы медицинской вирусологии: м-лы конф. – М., 1999 а. – Т. 2. – С. 29.

139. Карганова Г. Г., Дживанян Т. И., Гмыль Л. В., Кондратьева Я. Ю., Бахмутов Д. В., Гмыль Л. В., Лашкевич В. А. Микроэволюция вируса клещевого энцефалита, связанная со сменой хозяев// Актуальные проблемы медицинской вирусологии: м-лы конф. – М., 1999 б. – Т. 2. – С. 30.

140. Карпович Л. Г. Дальнейшее изучение некоторых биологических и культуральных свойств кемеровского вируса // В кн.: Актуальные проблемы вирусных инфекций: Материалы XII научн.сессии ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов. – М., 1965. – С. 182–183.

141. Катин А. А., Воробьева А. М., Дубов А. А. Особенности экологии естественно-ослабленных штаммов ВКЭ, выделенных на территории Западной Сибири // В кн.: Условия существования очагов КЭ в Западной Сибири. – Ленинград, 1974. – С. 58–74.

142. Катин А. А., Пустовалов И. Н. Характер взаимосвязи между клещевыми и вирусными популяциями в очагах КЭ в связи с вопросами их прогнозирования// В кн.: Природноочаговые болезни человека. – Омск, 1991. – С. 41–47.

143. Катин А. А., Якина Н. Х. Характеристика взаимосвязи между абсолютным возрастным составом популяций таежного клеща и степенью их вирусифорности в природных очагах // В кн.: Природноочаговые болезни человека. – Омск, 1989. – С. 84–89.

144. Катин А. А., Якина Н. Х., Гурбо Г. Д., Пустовалов И. Н. Некоторые особенности метаморфоза клещей *Ixodes persulcatus* P. Sch. близ южных и северных границ их ареала в Западной Сибири. // В кн.: V акарологическое совещание. – Фрунзе, 1985. – С. 145–146.

145. Карганова Г. Г. Хозяин-специфические детерминанты в геноме вируса клещевого энцефалита. // В кн.: Фундаментальные и прикладные аспекты изучения паразитических членистоногих в XXI в. СПб, 2013. – С. 71–3.

146. Килевой Л. Я., Кушнарев В. Г., Смирнова Н. Н. Клещевой энцефалит в Курганской области // В: Природноочаговые инфекции в России (современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения). Материалы Всероссийской конференции. Омск, 1998. – С.51–52.

147. Кларк Д. Дальнейшие исследования антигенных связей между арбовирусами группы В. – Бюллетень ВОЗ, 1964. – Т. 31, №1. – С. 50–66.

148. Ковалев С.Ю., Мухачева Т.А. Происхождение субтипов ВКЭ как результат адаптации к новому виду переносчика. – В.: Национальные приоритеты России. – Т. 3 (13). – 2014 : 107–10.

149. Коклягина А. Т. Фауна иксодовых клещей Алтайского края // Клещевой энцефалит в Алтайском крае. – Барнаул, 1963. – С. 19–25.

150. Коклягина А. Т. Географическое распространение иксодовых клещей в Алтайском крае // Мат-лы к краевой конф. микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов по природно-очаговым инфекциям в Алтайском крае. – Барнаул, 1967. – С. 31–37.

151. Колобухина Л. В., Львов Д. К., Скворцова Т. М. и др. Заболевания в России, ассоциированные с вирусами серогруппы калифорнийского энцефалита // Вопросы вирусологии. – 1998. – №1. – С. 14–17.

152. Колонин Г. В. Мировое распространение иксодовых клещей. Род *Haemaphysalis*. – М. : Наука, 1978. – 70 с.

153. Колонин Г. В. Мировое распространение иксодовых клещей. Роды *Dermacentor*, *Anocentor*, *Cosmiomma*, *Dermacentonomma*, *Nosoma*, *Rhipicentor*, *Rhipicephalis*, *Voophilus*, *Margaropus*, *Anomalohimalaya*. – М. : Наука, 1984. – 96 с.

154. Колчанов Н. А. Генные сети / Колчанов Н. А., Ананько Е. А., Колпаков Ф. А. и др. // Мол. Биол. –2000, Т. 34. – № 4. – С. 533–544.

155. Колясникова Н. М., Карань Л. С., Погодина В. В., Левина Л. С., Маленко Г. В., Лесникова М. В., Бочкова Н. Г., Килячкина А. С. Мониторинг структуры популяций вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западно-Сибирском и Северо-Западном регионах России // Медицинская вирусология: материалы научно-практической конференции. – М., 2009. – Т. XXVI. – С. 93–94.

156. Кондрашова З. Н. Изучение сохранения вируса омской геморрагической лихорадки в клещах *Ixodes persulcatus* при условии их массового дозированного заражения // Мед. Паразитология и паразитарн. Болезни. – М.: Медицина, 1970. – №3, Т. 39. – С. 274–277.

157. Кононова Ю. В. Вирус Западного Нила в различных экосистемах юга Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владимир, 2010.

158. Кононова Ю. В., Протопопова Е. В., Терновой В. А., Юрлов А. К., Золотых С. И., Друзяка А. В., Борисов С. Н., Локтев В. Б., Шестопапов А. М. Выявление антигена и РНК вируса Западного Нила у двух видов Врановых на юге Западной Сибири // В кн.: Актуальные проблемы здоровья населения Сибири: гигиенические и эпидемиологические аспекты (м-лы конф.). – Омск, 2004. – Т. 2. – С. 184–187.

159. Константинов В. П., Веселов Ю. В., Егорова Л. С. К клинико-эпидемиологической характеристике омской геморрагической лихорадки / Сов. медицина. – 1961, №1. – С. 70–71.

160. Константинов В. П., Котова Н. С., Сизимова Г. А. О случаях омской геморрагической лихорадки при заражении в лаборатории // В кн.: Клещевой энцефалит, кемеровская клещевая лихорадка, геморрагические лихорадки и другие арбовирусные инфекции. – М., 1964. – С. 316.

161. Коралло Н. П., Богданов И. И. Гостальная специфичность и биотопическая приуроченность гамазовых клещей родов *Hirstionyssus*, *Naemogamasus* и *Laelaps* в северной лесостепи Омской области // Паразитологические исследования в Сибири и на дальнем Востоке. – Новосибирск: Наука, 2002. – С. 90–93.

162. Коралло Н. П. Биоценотические связи гамазовых клещей (Acari: Parasitiformes: Gamasina) с мелкими млекопитающими на юге Западной Сибири (по материалам Омской области. Автореф. дисс. ... канд. биолог. наук. – Омск, 2004 – 19 с.

163. Корнилова Э. А., Гагарина А. В. Сравнительная характеристика биологических свойств штаммов омской геморрагической лихорадки // Вирусные геморрагические лихорадки. – М., 1971. – С. 464–468.

164. Коротков Ю. С., Кисленко Г. С. Соотношение светового и гидротермического факторов в детерминации морфогенетической диапаузы личинок и нимф таежного клеща на северо-западных отрогах Восточного Саяна // Паразитология. – 1995. – Т. 29 б, вып. 3. – С. 145–153.

165. Корш П. В. К вопросу эпизоотологической характеристики природных очагов омской геморрагической лихорадки на юге Западной Сибири // Вопр. Инфекц. Патологии. – Омск: Зап.-Сиб. Кн. Изд-во, 1971. – С. 70–75.

166. Котельникова Г. М. О восприимчивости некоторых видов клещей к вирусу Западного Нила // В кн.: Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов. Наука, СО. – Новосибирск, 1978. – С. 236–237.

167. Кулик И. Л., Винокурова И. С. Ареал клеща *Dermacentor pictus* в СССР. // Паразитология, 1983. – Т. 17. – В. 3. – С. 207–213.

168. Кулик И. Л., Винокурова Н. С. Ареал клеща *Dermacentor marginatus* в СССР // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. 1982, (3). – С. 16–23.

169. Кулик И. Л., Винокурова И. С. Ареал клеща *Dermacentor silvarum* в СССР // Медицинская паразитология и паразитарные болезни, 1983 б. – В. 3. – С. 23–28.

170. Кульбак С. Теория информации и статистика / С. Кульбак. – М.: Наука, 1967. – 220 с.

171. Кутузова Т. М. Сезонная динамика видового разнообразия и численности кровососущих комаров в природных биотопах лесостепного Зауралья // Вестн. Челяб. гос. пед. ун-та. 10. Экол. Валеол. Пед. психол. – 2002. – №3. – С. 73–79.

172. Кухарчук Л. П. Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) Сибири. Систематика. – Новосибирск: Наука, 1980. – 220 с.

173. Кухарчук Л. П. Экология кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) Сибири. – Новосибирск: Наука, 1981. – 232 с.

174. Кучерук В. В., Воронцова Т. А., Ковалевский Ю. В., Карасева П. С., Решетников И. А. Исследование на арбовирусы сывороток птиц Южного Ямала // В кн.: Экология вирусов, связанных с птицами (материалы республиканского симпозиума). – Минск, 1974. – С. 79–81.

175. Лавров Н. П. История акклиматизации ондатры и ее современный ареал // Ондатра (Морфология, систематика, экология) – Наука, М., 1993. – С. 39–46.

176. Лебедев Е. П. Характеристика очага омской геморрагической лихорадки в межэпидемический период // Природноочаговые антропонозы. – Омск, 1976. – С. 125–126.

177. Лебедев Е. П., Сизимова Г. А., Бусыгин Ф. Ф. Клинико-эпидемиологическая характеристика омской геморрагической лихорадки / ЖМЭИ, №11. – М: Медицина, 1975. – С. 132–133.

178. Лебедев Е. П., Бусыгин Ф. Ф. Серологические исследования на арбовирусные инфекции в лесостепных районах Омской области // Экология вирусов, связанных с птицами. – Минск, 1974. – С. 83–84.

179. Леонова Г. Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае. – Владивосток: Дальнаука; 1997.

180. Ливанова Н. Н., Ливанов С. Г., Панов В. В. Особенности распределения клещей *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskyi* на границе лесной и лесостепной зон Приобья // Паразитология. 2011. 45 (2). – С. 94–102.

181. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг / Д. К. Львов и др. – Волгоград. Издатель, 2004. – 104 с., ил.

182. Локтев В. Б. Таксономия флавивирусов и их генетическое разнообразие. В кн.: Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском

регионе. – Новосибирск: Издательство Сибирского отделения РАН; 2011. – С. 257–79.

183. Локтев В. Б. Флавивирусы как новые и возвращающиеся патогенны // Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Материалы расширенного пленума проблемной комиссии. – М., 2007. – С. 6–13.

184. Лукашев В. В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ / В. В. Лукашев. – М.: БИНОМ, 2009. – 256 с.

185. Львов С. Д., Громашевский В. Л., Морозова Т. Н. и др. Распространение вирусов серогруппы калифорнийского энцефалита (Bunyaviridae, Bunyavirus) в северных широтах России // Вопр. Вирусологии, 1997. – №5. – С. 229–235.

186. Львова А. И., Гайдамович С. Я., Циркин Ю. М., Красовский Ф. В. Изучение цитопатогенного агента типа Кемеровского вируса при смешанной инфекции к интерференции с вирусом клещевого энцефалита // В кн. «Клещевой энцефалит, Кемеровская клещевая лихорадка, геморрагические лихорадки и др. арбовирусные инфекции»: Матер. XI научн. сессии Института полиомиелита и вирусн. энцефалитов, 1964. – С. 257–259.

187. Макенов М. Т., Якименко В. В., Малькова М. Г. Динамика численности таежного клеща (*Ixodes persulcatus*, Schulze, 1930) // Национальные приоритеты России. – 2014. № 3 (13). – С.53–55.

188. Максимов А. А. Многолетние колебания численности животных, их причина и прогноз. – Новосибирск: «Наука», СО, 1984. – 247 с.

189. Максимов А. А. Природные очаги туляремии в СССР. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1960. – 290 с.

190. Максимов А. А. Природные циклы. Причины повторяемости экологических процессов. – Ленинград: Наука, 1989. – 234 с.

191. Малькова М. Г. Зональные фаунистические комплексы и структура сообществ мелких млекопитающих и связанных с ними членистоногих в Западной Сибири: Дисс. ... докт. биол. наук. – Новосибирск, 2009. – 452 с.

192. Малькова М. Г., Сидоров Г. Н., Богданов И. И., Крючков В. С., Станковский А. А. Животные Омской области. Млекопитающие. – Омск, 2003. – 271 с.

193. Малькова М. Г., Якименко В. В., Танцев А. К. Современное состояние границ ареалов пастбищных иксодовых клещей в Западной Сибири // Журн. инфекц. патол. 2012а. 19 (3) : 34 [Мат-лы междунар. научн. конф. «Клещевой энцефалит и другие инфекции, переносимые клещами», посвященной 75-летию открытия вируса клещевого энцефалита (Иркутск-Листвянка, 26–29 июня 2012 г.)].

194. Малькова М. Г., Якименко В. В., Танцев А. К. Изменение границ ареалов пастбищных иксодовых клещей рода *Ixodes* на территории Западной Сибири // Паразитология. – 2012 б. – 46 (5). – С. 369–383.

195. Малькова М. Г., Якименко В. В., Танцев А. К., Панов В. В., Винарская Н. П. Изменение границ ареалов пастбищных иксодовых клещей на территории Западной Сибири: возможные причины и последствия // Современные аспекты природной очаговости болезней. Омск: ООО «Издательский центр «Омский научный вестник», 2011. – С. 55–56 [Мат-лы Всеросс. научно-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора].

196. Малюшина Е. П. Ixodidae Тюменской области // Экология животных и фаунистика. – Тюмень, 1983. – С. 52–71.

197. Малюшина Е. П. Клещи *Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps* Vir. в природных очагах клещевого энцефалита южнотаежных лесов Западно-Сибирской равнины: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – М.: 1967. – 16 с.

198. Малюшина Е. П. Распространение *Ixodes (Exopalpiger) trianguliceps* Vir. в Западной Сибири // Первое акарол. совещ.: Тез. докл. – М.-Л., 1966. – С. 129.

199. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы генетической инженерии // Гл. 7. Молекулярное клонирование. (ред. Бабаев А. А., Скрябин К. Г.). – М.: Мир, 1984. – С. 205–240.

200. Мансуров П. Г. Совершенствование лабораторной диагностики КЭ (методы и средства серо-вирусологического анализа). Автореф. дисс... канд. биолог. наук., Томск, 1990. – 15 с.

201. Матущенко А. А., Якименко В. В., Танцев А. К., Малькова М. Г. Негативные тенденции эпидемической ситуации в природных очагах клещевого энцефалита на юге Западной Сибири – результат глобальных изменения климата или вековые циклы? // Изменение климата и здоровье населения России в XXI веке: Сборник мат-лов международного семинара. – М., 2004. – С. 124–134.

202. Медицинская вирусология (под. ред. акад. Д.К. Львова). – Изд-во МИА, М., 2008. – 655 с.

203. Меринов В. А. Экология клеща *Dermacentor nuttalli* Ol. и его значение в эпизоотологии северо-азиатского риккетсиоза // Проблемы медицинской паразитологии и природной очаговости инфекций. – М.: Медицина, 1964. – С. 621–627.

204. Мефодьев В. В., Кашуба Э. Ф., Козлов Л. Б., Огурцов А. А. Эколого-эпидемиологические аспекты клещевого энцефалита на сопряженных территориях Урала и Сибири. Изд-во «Путеведь», Екатеринбург, 2002. – 278 с.

205. Мирзаева А. Г. Увеличение численности умеренно-теплолюбивых видов комаров (Diptera: Culicidae) на юге Западной Сибири в связи с изменением климатических условий // Русский энтомол. журнал. – 2008. – 17 (1). – Р. 81–86.

206. Мирзаева А. Г., Смирнова Ю. А., Юрченко Ю. А., Кононова Ю. А. К познанию фауны и экологии кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) лесостепных и степных районов Западной Сибири // Паразитология. – 41 (4). – 2007. – С. 253–267.

207. Мирзаева А. Г., Юрченко Ю. А., Белевич О. Э. Комары // Биоразнообразии Карасукско-Бурлинского региона (Западная Сибирь). – Новосибирск: Изд-во СО РАН. 2010. – С. 148–155.

208. Морозов Ю. В. Изучение восприимчивости позвоночных животных к возбудителю клещевого энцефалита // В кн.: Клещевой энцефалит. – Минск, 1965. – С. 39–45.

209. Морозова О. В. Проблемы и перспективы профилактики, диагностики и лечения клещевого энцефалита // Российский медицинский журнал. – 2014. – Vol. 20 (6). – P. 26–31.

210. Москвитина Н. С., Коробицын И. Г., Кравченко Л. Б., Большакова Н. П., Тютеньков О. Ю., Романенко В. Н., Локтев В. Б. О роли *Ixodes pavlovskyi* в очагах клещевых инфекций // В: Паразитология в изменяющемся мире. М-лы всероссийской конференции с международным участием. Новосибирск, 2013. – С. 129.

211. Наумов Р. Л., Чунихин С. П., Гугова В. П. Экспериментальное изучение взаимоотношений позвоночных с вирусом клещевого энцефалита. 2. Мелкие млекопитающие // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни. – 1984. - №2. – С. 83–86.

212. Некрасова Л. С., Вигоров Ю. Л., Вигоров А. Ю. Экологическое разнообразие кровососущих комаров Урала. – Екатеринбург, 2008. – 207 с.

213. Нецкий Г. И. Основные природные факторы в эпидемиологии малярии в Западно-Сибирской низменности: Дисс. ... докт. биол. наук. – Омск, 1955. – 564 с.

214. Нецкий Г. И., Федорова Т. Н., Мелентьева Л. А. Результаты определения степени вирусофорности иксодовых клещей в очагах КЭ и ОГЛ в Западной Сибири (1959 – 1961 гг.) // Материалы межинститутской научной конференции по изучению природно-очаговых заболеваний Сибири и Дальнего Востока. Томск: Изд-во Томского университета, 1962. – С. 12–13.

215. Нецкий Г. И., Алифанов В. И., Богданов И. И., Дарголец В. Г., Иголкин Н. И., Коклягина А. Т., Логиновский Г. Е., Столбов Н. М., Мальков Г. Б., Малюшина Е. П., Федоров В. Г., Попов В. В., Белан А. А., Евстигнеева Н. С., Гуковская В. М., Таранюк Г. С., Аркатовский П. А., Морозов Ю. А., Апенкина Н. Н., Сумароков В. С. К изучению фауны и ареалов иксодовых клещей Западной Сибири в связи с их ролью в природной очаговости некоторых инфекций // Первое акарол. совещ.: Тез. докл. – М.-Л., 1966. – С. 146–147.

216. Новицкий В. С. К патологической анатомии весенне-осенней лихорадки в Омской области/ Труды Омского мединститута. – Омск, 1948. – №13, Вып. 1. – С. 97–134.

217. Окулова Н. М. Биологические связи в лесных экосистемах (на примере природных очагов клещевого энцефалита). – М.: Наука, 1986. – 247 с.

218. «Ондатра» (отв. редакторы акад. Соколов В. Е., д.б.н. Лавров Н. П.). – М.: Наука, 1993. – 542 с. ISBN 5-02-005412-7

219. Орлов А. И. Прикладная статистика: учебник. – М.: Экзамен, 2006.

220. Павлова Р. П., Хлызова Т. А., Федорова О. А. Экология кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) и мошек (Diptera: Simuliidae) лесостепного Зауралья // Вестник Тюменского гос. ун-та. 2007. – № 6. – С. 165–172.

221. Павлова Р. П., Хлызова Т. А., Федорова О. А., Чередников А. И., Латкин С. В. Видовой состав кровососущих комаров и мошек на пастбищах юга Тюменской области // Российский паразитол. журн. 2011. – № 4. – С. 41–46.

222. Панов В. В. Мелкие млекопитающие лесопарковой зоны ННЦ – прокормители преимагинальных фаз иксодовых клещей // В кн.: Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. – Новосибирск: изд-во СО РАН, 2011. – С. 35–38.

223. Пеньевская Н. А., Рудакова С. А., Рудаков Н. В., Коломенский А. П. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в северных районах Омской области // Пермский медицинский журнал. – 2009. – Т. 26. – №5. – С. 32–39.

224. Переверзев В. Д. К эпидемиологической характеристике псевдоочагов КЭ в северных районах Омской области // В кн.: Вопр. эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. Труды Томского НИИВС и ТМИ. – Томск: Изд-во Томского университета, 1969. – Т. XX. – С. 46–50.

225. Переверзев В. Д. Эпидемиологическая характеристика южно-таежных очагов КЭ в Омской области // В кн.: Нейроинфекционные заболевания Западной Сибири. – Новосибирск, 1970. – С. 89–94.

226. Петрищева П. А. Кровососущие комары (Culicidae), мокрецы (Heleidae), слепни (Tabanidae) // Методы изучения природных очагов болезней человека. – М.: Медгиз, 1964. – С. 12–35.

227. Платонов А. Е., Ciccozzi M., Карань Л. С., Якименко В. В., Lo Presti A., Rezza G. Современные методы изучения филогенеза вирусов (на примере вируса Омской геморрагической лихорадки) // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – №2. – С. 57 – 64.

228. Плетнев А. Г., Ямщиков В. Ф., Блинов В. М. Нуклеотидная последовательность генома и полная аминокислотная последовательность полипротеина вируса клещевого энцефалита // Биоорг. Химия. – 1989. – Т. 15, № 11. – С. 1504–1521.

229. Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М., Левина Л. С. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблемы эволюции возбудителя // *Вопр. Вирусологии. – Медицина*, 2007. – №5. – С.16–21.

230. Погодина, В. В. Сибирский подтип вируса клещевого энцефалита, доминирующий на территории России. Распространение и патогенность. / В. В. Погодина, Л. С. Карань, Н. М. Колясникова, Л. С. Левина, С. Г. Герасимов и др. // *Мед. Вирусология. – 2013. – Vol. 27 (1). – Р. 36.*

231. Погодина В. В., Фролова М. П., Ерман Б. А. Хронический клещевой энцефалит. Этиология, эпидемиология, патогенез. – Новосибирск, Наука, 1986. – 233 с.

232. Попов В. М. Иксодовые клещи Западной Сибири (систематика, характеристика, экология и географическое распространение отдельных видов, эпидемиологическое и эпизоотологическое значение, борьба с иксодовыми клещами). – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 1962. – 259 с.

233. Прилипов А. Г., Кинни Р. М., Самохвалов Е. И., Сэведж Г. М., Альховский С. В., Тсучия Р., Громашевский В. Л., Садыкова Г. К., Шаталов А. Г., Вышемирский О. И., Усачев Е. В., Мохонов В. В., Воронина А. Г., Бутенко А. М., Ларичев В. Ф., Жуков А. Н., Ковтунов А. И., Гублер Д. Дж., Львов Д. К. Анализ новых вариантов вируса лихорадки Западного Нила // *Вопр. вирусологии. – №4. – 2002. – С. 36–41.*

234. Природно-очаговые инфекции Республики Алтай / Под общ. ред. Г. Г. Онищенко. Горно-Алтайск. – 2012. – 90 с.

235. Природные циклы Барабы и их хозяйственное значение. – Новосибирск: Наука, 1982. – 152 с.

236. Пустовалов И. Н. Активность таежных клещей в условиях средней тайги Западной Сибири // В: *Природноочаговые инфекции в России (современная эпидемиология, диагностика, тактика защиты населения). Материалы Всероссийской конференции. Омск, 1998. С.68–69.*

237. Пустовалов И. Н., Ващенко В. П., Кашапов Н. Г. Характеристика сезонной активности имаго таежных клещей по результатам многолетних наблюдений // В.: *Актуальные аспекты природноочаговых болезней: материалы межрегиональной научно-практической конференции. Омск, 2001. – С. 48–49.*

238. Пчелкина А. А., Никитина Н. А., Кулик И. Л. Изучение вируемии у рыжих, красных и узкочерепных полевок при экспериментальном заражении вирусом клещевого энцефалита // *Мед.паразитол. и паразитарн. болезни. – 1969 – №4. – С. 431–435.*

239. Равдоникас О. В., Корш П. В., Иванов Д. И. Ландшафтные особенности нозоареала омской геморрагической лихорадки (ОГЛ) // *Труды и-та полиомиелита и вирусных энцефалитов. Эндемические вирусные лихорадки. – 1968. – Т. 12. – С. 441–448.*

240. Равдоникас О. В., Чумаков М. П., Соловей Э. А., Иванов Д. И., Корш П. В. Значение болотного норového клеща *Ixodes apronophorus* P. Sch.

В циркуляции вируса омской геморрагической лихорадки в природном очаге// В кн.: Вирусные геморрагические лихорадки: труды и-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. – М., 1971. – Т. XIX. – С. 486–491.

241. Редькина Н. В. Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) антропогенных территорий юго-востока Западной Сибири на примере городов Томска и Стрежевого: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Томск. 2008. – 20 с.

242. Редькина Н. В., Истраткина С. В. Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) юга Томской области // Журнал инфекционной патологии. – 2009. – Т. 16. – № 3. – С. 182–183.

243. Редькина Н. В., Островерхова Н. В., Островерхова Г. П. О фауне кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) г. Томска // Вестник Томского гос. ун-та, 2007. – № 300–2. – С. 221–227.

244. Репкина Л. В. Динамика расходования голодными иксодовыми клещами запасных питательных веществ и взаимосвязь этого процесса с популяционно-экологическими особенностями иксодид. Автореф. дисс. ... канд. биолог. наук., Москва, 1980. – 23 с.

245. Робинзон И. А., Савинов А. П. Сравнительно-морфологическое изучение инфекции, вызванной у различных животных, при заражении их кемеровским вирусом. Матер. XI научн. сессии Ин-та полиомиелита и вирусн.энцеф. – М., 1964. – С. 249.

246. Романенко В. Н. Динамика численности иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) при рекреационной нагрузке // Тр. Кемеровского отд. Русского энтомол. общ-ва. – 2007. 5. – С. 43–49.

247. Романенко В. Н. Мониторинг видового состава и численности иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) в антропогенных биотопах // Вестн. Томск. ун-та, 2009 а. – № 324. – С. 376–379.

248. Романенко В. Н. Продолжительность сезона активности клещей рода *Ixodes* в антропогенных ландшафтах таежной зоны Западной Сибири // Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке : Мат-лы III межрегион. науч. конф. Новосибирск, 2009 б. – С. 243–245.

249. Романенко В. Н., Чекалина Н. Б. Видовой состав иксодовых клещей на территории г. Томска // Вестн. Томск. ун-та, 2004. – 11. – С. 132–135.

250. Романова Л. Ю. Изменение свойств вируса КЭ при смене хозяев. Автореф. дисс. ... канд. биолог. наук., Москва, 2006. – 23 с.

251. Россолов М. А., Бусыгин Ф.Ф. Новые данные по экологии арбовирусов и вирусов гриппу в Западной Сибири // В кн.: Природно-очаговые болезни человека (вопросы эпидемиологии и профилактики). – Омск, 1981. – С. 97–105.

252. Россолов М. А., Якименко В. В. Роль гамазовых клещей в сочетании очаге арбовирусов в северной лесостепи Омской области // Природно-очаговые болезни человека. – Омск, 1985. – С. 80–86.

253. Рудакова С. А., Коломеец А. Н., Самойленко И. Е., Кузьминов А. М., Рудаков Н. В. Экспресс-индикация трансмиссивных патогенов как основа дифференцированного подхода к профилактике инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2007. – Т. 27, № 4. – С. 116–119.

254. Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных/ Под. ред. Д. К. Львова. – М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2013. – 1200 с.

255. Савченко С. Т., Лобанов А. Н., Краснова Е. М., Лазоренко В. В., Русакова Н. В., Юлин Н. Н., Ерофеев А. Ю. Медико-географическое районирование Волгоградской области по степени риска заболевания лихорадкой Западного Нила // Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Материалы расширенного пленума проблемной комиссии. – М., 2007. – С. 161–164.

256. Сапегина В. Ф. Иксодовые клещи Северо-Восточного Алтая: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 1972. – 24 с.

257. Сапегина В. Ф. Распределение иксодовых клещей в лесной зоне Западной и Средней Сибири // Проблемы зоогеографии и истории фауны. – Новосибирск : Наука, 1980. – С. 67–76.

258. Сапегина В. Ф., Лукьянова И. В., Равкин Ю. С. К экологии *Ixodes pavlovskyi* // Второе акарол. совещ.: Тез. докл. Киев : Наукова думка, 1970. – Ч. 2. – С. 120–122.

259. Сапегина В. Ф., Равкин Ю. С. О находках *Ixodes pavlovskyi* Rom. в северо-восточном Алтае // Паразитология. 1969. – 3 (1) : 22.

260. Сафронов П. В., Нетесов С. В., Микрюкова Т. П. и др. Нуклеотидная последовательность генов и полная аминокислотная последовательность белков вируса клещевого энцефалита штамма 205 // Молек. генет. микробиол. вирусол. – 1991. – №4. – С. 23–29.

261. Свирежев Ю. М. Основы математической генетики / Ю. М. Свирежев, В. П. Пасеков. – М., 1982. – 512 с.

262. Семенов Б. Ф., Чунихин С. П. Латентная инфекция сизых голубей вирусом Западного Нила // Материалы VI Симпозиума по изучению вирусов, экологически связанных с птицами. Омск, 1971. – С. 17.

263. Сиденко В. П., Семенов Б. Ф., Гринфельд А. А. // Материалы XV научной сессии ин-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. – М., 1968. – Т. 3. – С. 264–265.

264. Сиземова Г. А. К вопросу о диагностике омской геморрагической лихорадки /Труды ОмГМА, № 21. – Омск, 1957. – С. 256–260.

265. Сиземова Г. А. Клинико-эпидемиологическая характеристика омской геморрагической лихорадки // Труды ИПВЭ: Эндемические вирусные инфекции. – М., 1965. – Т. 7. – С. 430–439.

266. Ставский А. В. Изучение восприимчивости диких уток к вирусу Западного Нила // Материалы VI Симпозиума по изучению вирусов, экологически связанных с птицами. – Омск, 1971. – С. 18.

267. Стародуб З. Ф., Рачков А. Э. Избирательность трансляции матричных рнк эукариот // Биополимеры и клетка. 1986; – Vol.2(4). – Р. 167–178.
268. Столбов Н. М. Об экологии и распространении клещей *Ixodes plumbeus* Leach в природных очагах инфекций Западной Сибири // Первое акарол. совещ.: Тез. докл. – М.-Л., 1966. – С. 203–204.
269. Столбов Н. М., Дубов А. В., Филатов В. Г. Итоги и перспективы изучения природной очаговости КЭ и ОГЛ в Тюменской области // В кн.: Вопросы краевой инфекционной патологии (мат. итоговой научной конф.). – Тюмень, 1970. – С. 24–29.
270. Столбов Н. М., Малюшина Е. П., Белан А. А., Галимов В.Р. Распределение иксодовых клещей по ландшафтным зонам Тюменской области // Первое акарол. совещ. : Тез. докл. – М.-Л., 1966. – С. 205.
271. Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н., Богданов И. И. Некоторые новые методические подходы к изучению популяционной экологии вируса лихорадки Западного Нила // Современные методы в изучении природноочаговых инфекций. – Л., 1979. – С. 17–21.
272. Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н., Членистоногие убежищного комплекса в природных очагах арбовирусных инфекций. – Новосибирск: Наука, 1982. – 229 с.
273. Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н., Богданов И. И., Якименко В. В. Изучение членистоногих убежищного комплекса в природных очагах трансмиссивных вирусных инфекций (руководство по работе в полевых и лабораторных условиях). – Изд-во ТГУ: Томск, 1990. – 106 с.
274. Тагильцев А. А., Тарасевич Л. Н., Якименко В. В. Материалы сравнительного изучения экологии ВКЭ в эксперименте // Природно-очаговые инфекции и инвазии. – Омск, 1984. – С. 84–90.
275. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): Морфология, систематика, экология, медицинское значение / отв. ред. тома Н. А. Филиппова. – Л.: Наука, 1985. – 416 с. [серия «Виды фауны СССР и сопредельных стран»].
276. Танкибаев М. А. Характеристика природных очагов арбовирусных инфекций Казахского мелкосопочника // Автореф. Дисс. канд. мед.наук. – Алматы, 1996. – 19 с.
277. Тарасевич Л. Н. Изучение свойств цитопатогенных вирусов, выделенных в очаге клещевого энцефалита в Новосибирской области // В кн.: Вопросы инфекционной патологии. – Омск, 1970 а. – Т. 2. – С. 220–221.
278. Тарасевич Л. Н., Мелентьева Л. А., Волынец Л. В. Материалы вирусологических исследований на клещевой энцефалит в Тогучинском районе Новосибирской области // В кн.: Мед. география. – Омск, 1970 б. – Т. 2. – С. 121–125.
279. Тарасевич Л. Н., Тагильцев А. А., Богданов И. И. О возможности существования сочетанных очагов арбовирусов группы В в очагах Омской области // Арбовирусы. – М., 1978. – Вып. 3. – С. 58–61.

280. Терновой В. А., Щелканов М. Ю., Шестопалов А. М., Аристова В. А., Протопопова Е. В., Громашевский В. Л., Друзяка А. В., Славский А. А., Золотых С. И., Локтев В. Б., Львов Д. К. Выявление вируса Западного Нила у птиц на территории Барабинской и Кулундинской низменностей (Западно-Сибирский перелетный путь) в летне-осенний период 2002 г. // Вопросы вирусологии. – 2004. – 49 (3). – С. 52–56.

281. Тимлер Е. В. Эпидемическая характеристика КЭ в Тюменской области за 1958–1960 гг. // Межобластная научно-практическая конференция по природно-очаговым инфекциям: тез. докл.: Тюмень, 1961. – С. 129–130.

282. Ткачев С. Е., Боргояков В. Ю., Чикова Е. Д., Панов В. В. Генетическое разнообразие ВКЭ на территории Новосибирского НЦ // В: Национальные приоритеты России. – №2 (5). – 2011. – С. 154–155.

283. Ткачев С. Е., Казакова Ю. В., Черноусова Н. Я., Толоконская Н. П. Молекулярно-генетический анализ вариантов ВКЭ, выявленных у пациентов Новосибирской области // В: Национальные приоритеты России. – 2009. – №2. – С. 174–175.

284. Ткачев С. Е., Козлова И. В., Джиев Ю. П., Верхозина М. М., Дорошенко Е. К., Лисак О. В., Демина Т. В., Сунцова О. В., Злобин В. И., Парамонов А. И., Тикунов А. Ю., Ляпунов А. В., Тикунова Н. В., Ружек Д. Характеристика штаммов вируса клещевого энцефалита европейского генотипа, выявленных на территории западной и восточной Сибири // В: Национальные приоритеты России. – 2014. – № 3 (13). – С. 127–130.

285. Ткачев С. Е., Тикунов А. Ю., Бабкин И. В., Ливанова Н. Н., Панов В. В., Якименко В. В., Танцев А. К., Тикунова Н. В. Обнаружение вируса Кемерово в различных регионах Западной Сибири // Медицинская вирусология. – 2013. – Т. XXVII (1). – С. 37.

286. Толоконская Н. П., Мальтинский М. Л., Губарева Е. А., Ильина В. В., Литвинова М. А. Клинико-эпидемиологические особенности ОГЛ в Новосибирской области // В.: Актуальные аспекты природноочаговых болезней: материалы межрегиональной научно-практической конференции. – Омск, 2001. – С. 66–67.

287. Тюлько Ж. С., Якименко В. В. Влияние рекомбинационных процессов на изменчивость генома в связи с вопросами эволюции хантавирусов Старого Света // Актуальные проблемы природной очаговости болезней. Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 70-летию теории академика Е.Н. Павловского о природной очаговости болезней. – Омск, 2009. – С. 171–172.

288. Тюлько Ж. С., Якименко В. В. Изучение филогенетических отношений хантавирусов с применением метода вычисления взаимной информации (на примере Хантаан-подобных вирусов) // Хантавирусы и хантавирусные инфекции. – Владивосток, 2003. – С. 173–181.

289. Тюлько Ж. С., Якименко В. В. К проблеме изменчивости генома вирусов клещевого энцефалита // Национальные приоритеты

России. Современные аспекты природной очаговости болезней. – 2011. – №2. – С. 168–170.

290. Тюлько Ж. С., Якименко В. В. Связанные замены в малом сегменте генома хантавирусов Старого света // *Вопр. вирусологии.* – 2008. – Т. 53 (3). – С. 28–34.

291. Тюшнякова М. К. Вирусологическая характеристика Томского очага КЭ // *Межинститутская научная конф. По заболеваниям с природной очаговостью, посвященная 50-летию Томского НИИВС: тез. докл.:* Томск, 1956. – С. 29–31.

292. Федоров В. Г. К изучению кровососущих комаров в сосновых борах Приобья // *Современный мир, природа и человек.* – 2011. – Т.2, № 1. – С. 101.

293. Федоров Ю. В. Дальнейшие наблюдения по значению диких птиц в качестве прокормителей иксодовых клещей в Томском очаге клещевого энцефалита // *Тр. Томского НИИВС.* – Томск, 1958. – Т. IX. – С. 23–26.

294. Федорова М. В. Комары (Diptera, Culicidae) – переносчики Западного Нила на территории России // *Арбовирусы и арбовирусные инфекции: Материалы расширенного пленума проблемной комиссии.* – М., 2007. – С. 168–174.

295. Федорова Т. Н. Вирусологическая характеристика природных очагов омской геморрагической лихорадки и клещевого энцефалита в Западной Сибири / *Авторефрф.... док. мед. наук.* – Томск, 1969. – 40 с.

296. Федорова Т. Н., Матюхин В. Н., Волынец Л. В. Изучение антигенных взаимосвязей вирусов омской геморрагической лихорадки и клещевого энцефалита в кинетической реакции торможения гемагглютинации: М-лы проблемной комиссии РАМН СССР «Полиомиелит и вирусные энцефалиты». *Арбовирусы* – М., 1967. – Вып. 2. – С. 202–204.

297. Федорова Т. Н., Сизимова Г. А. Заболевания омской геморрагической лихорадкой людей и ондатр в зимний период / *ЖМЭИ,* 1964. – №11. – С. 134–136.

298. Федорова Т. Н., Ставский А. В., Федоров В. Г. Лихорадка Западного Нила у экспериментально инфицированных грачей // *Материалы VI Симпозиума по изучению вирусов, экологически связанных с птицами.* – Омск, 1971. – С. 19.

299. Федюшин А. В., Нецкий Г. И. Итоги работы паразитологической группы экспедиции Омского областного отдела здравоохранения и Омского медицинского института им. М.И.Калинина по изучению весенне-летней лихорадки в Саргатском районе в 1946 г. // *Труды Омского медицинститута.* – Омск, 1948. – №13, Вып. 1. – С. 59–80.

300. Филатов В. Г., Сульженко Е. Н., Дубов А. В., Галимов В. Р., Гурбо Г. Д. Распределение по ландшафтам и движение заболеваемости КЭ в зависимости от некоторых природных и социальных факторов

в Тюменской области в 1960–1972 гг. // В кн.: Условия существования очагов КЭ в Западной Сибири. – Ленинград, 1974. – С. 14–29.

301. Филатова Н. А., Швабауэр В. Я. КЭ в Омской области и меры борьбы с ним // Материалы межинститутской научной конференции по изучению природно-очаговых заболеваний Сибири и дальнего Востока. – Томск: Изд-во Томского университета, 1962. – С. 14–15.

302. Филиппова Н. А. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae. Л. : Наука, 1977. 396 с. [Фауна СССР : Паукообразные. Т. 4. Вып. 4].

303. Филиппова Н. А. Особенности биоразнообразия Европейской фауны иксодовых клещей (Acari, Ixodidae) как переносчиков возбудителей природноочаговых болезней // Паразитология. – 2011. – 45 (3): С. 161–181.

304. Филиппова Н.А., Ушакова Г.В., Беляев В.Г. О результатах ревизии видов группы *I. persulcatus* в природных очагах клещевого энцефалита // Второе акарол. совещ.: Тез. докл. – Киев: Наукова думка, 1970. – Ч. 2. – С. 188–190.

305. Флеер Г. П., Березина Л. К. О наличии в крови домашних животных антител, нейтрализующих вирус Кемеровской лихорадки. // В кн. Акт.проблемы вирусных инфекций. – М. , 1965. – с. 183.

306. Фолитарек С. С. Эффект столкновения незнакомцев *Alienconflictus* в эпизоотологии ондатры Западной Сибири // Перелетные птицы и их роль в распространении арбовирусов. – Новосибирск, 1969. – С. 128–130.

307. Халафян А. А. Учебник СТАТИСТИКА 6. Статистический анализ данных. – М.: Бином, 2007.

308. Харитоновна Н. Н. Чувствительность ондатр и водяных крыс к вирусу омской геморрагической лихорадки в эксперименте // Изв. СО АН СССР. – 1967, № 15, Сер. биолог. наук, вып. 3. – С. 106–109.

309. Харитоновна Н. Н., Леонов Ю. А. Омская геморрагическая лихорадка. – Новосибирск: Наука, 1978. – 220 с.

310. Цибулина П. П., Гурьянова В. А., Белан А. А. Клещи *Dermacentor pictus* Herm., как переносчики вируса группы клещевого энцефалита в лесостепной зоне // В кн.: Клещевой энцефалит, кемеровская клещевая лихорадка, геморрагические лихорадки и другие арбовирусные инфекции. – М., 1964. – С. 229–230.

311. Цилинский, Я. Я. Популяционная структура и эволюция вирусов / Я. Я. Цилинский. –М.: Медицина, 1988. – 240 с.

312. Чигирик Е. Д., Истраткина С. В., Бирюкова М. П., Некрасова А. В. Находки клещей *Ixodes pavlovskyi* Rom. (Ixodoidea, Ixodidae) в Кемеровской области // Паразитология. – 1972. 6 (3). – С. 305–306.

313. Чигирик Е. Д., Селютин И. А., Бирюкова М. П., Истраткина С. В. Обнаружение очага высокой численности клещей *Ixodes pavlovskyi* Rom. (Parasitiformes, Ixodidae) и спонтанная зараженность их вирусом клещевого энцефалита // Паразитология. – 1974. – 8 (2). – С. 181–183.

314. Чумаков М. П., Изотов В. К., Сарманова Е. С. Особенности биологических и культуральных свойств некоторых штаммов вируса Кемерово. // Матер.ХУ науч.сессии Института полиомиелита и вир.энц. – М., 1968. – Вып. 3. – С. 81–82.

315. Чумаков М. П. К итогам экспедиции Института неврологии по изучению омской геморрагической лихорадки (ОГЛ)// Вестн. АМН СССР, 1948. – №2. – С. 19–26.

316. Чумаков М. П., Карпович Л. Г., Сарманова Е. С., Либикова Е., Майер В. и др. Выделение в Западной Сибири из клещей *Ixodes persulcatus* и от больных людей вируса, отличающегося от возбудителя клещевого энцефалита. // Вопр.вирусол. – 1963, I. – 98 с.

317. Чумаков М. П., Сарманова Е. С., Бычкова М. В., Изотов В. К. и др. Изучение природы лихорадочных заболеваний, этиологически не связанных с клещевым энцефалитом в эндемических очагах Кемеровской области. // Материалы XIII науч.сессии Ин-та полиомиелита и вирусн.энцефалитов. – М., 1967. – 116 с.

318. Чумаков М. П., Соловей Э. А., Бусыгин Ф. Ф., Цаплин И. С. Реакция диффузной преципитации в агаре (РДПА) при дифференциации зон влияния очагов омской геморрагической лихорадки и клещевого энцефалита// В кн.: Вирусные геморрагические лихорадки: Труды и-та полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. – 1971. – Т. XIX. – С. 475–484.

319. Чунихин С. П., Дживанян Т. И. Экологические маркеры арбовирусов: ДС-маркер вируса клещевого энцефалита // Вестн. АМН СССР. – 1977. – №5. – С. 17–21.

320. Чунихин С. П., Куренков В. Б., Дживанян Т. И., Рыльцева Е. В. Изучение особенностей трансфазовой и трансмиссивной передачи штаммов вируса клещевого энцефалита с разной степенью патогенности для мышей // Мед.паразитол. и паразитарные болезни. – 1979. – Т. XLVIII, №2. – С. 61–65.

321. Чунихин С. П., Куренков В. Б., Решетников И. А., Хозинская Г. А., Коротков Ю. С., Окулова Н. М., Хозинский В. В. Экспериментальная характеристика роли грызунов в популяционной селекции вируса клещевого энцефалита // В кн.: Экология вирусов. – 1982. – С. 11–15.

322. Чунихин С. П., Леонова Г. Н. Экология и географическое распространение арбовирусов. – М.: Медицина, 1985. – 125 с.

323. Шаманин В. А., Плетнев А. Г., Злобин В. И. Применение молекулярной гибридизации с синтетическими дезоксиолигонуклеотидами для дифференциации штаммов вируса клещевого энцефалита // Вопр. вирусол., 1990. – №6. – С. 474–478.

324. Шишкина Е. О., Бутенко А. М., Гайдамович С. Я., Ларичев В. Ф., Журавлев В. И., Щербакова С. А., Ковтунов А. И., Джаркенов Ф. Ф., Ситков В. Г., Донская М. Г. Изучение иммуноструктуры населения

Астраханской области к вирусу Западного Нила в 1998 и 1999 гг. // Актуальные аспекты природно-очаговых болезней. – Омск, 2001. – С. 80–83.

325. Шнитников А. В. Внутривековая изменчивость компонентов общей увлажненности. – Л., Наука, 1969. – 244 с.

326. Шубин Н. В. Клиника КЭ в Западной Сибири // Межинститутская научная конф. По заболеваниям с природной очаговостью, посвященная 50-летию Томского НИИВС: тез. докл.: Томск, 1956. – С. 42–46.

327. Щучинова Л. Д., Малькова М. Г. Иксодофауна Республики Алтай // Охрана здоровья и благополучия населения. Итоги и перспективы (к 90-летию санитарной службы): Мат-лы научно-практ. конф. – Горно-Алтайск, 2012. – С. 181–182.

328. Эндриус Х. Вирусы позвоночных. Пер. с англ. Столыпной Л. Ф. Под ред. и с предисл. д-ра вет. наук проф. Сюрин В. Н. – М., изд-во «Колос», 1967. – 421 с.

329. Явья А. Р., Близнюк В. В. КЭ в северных районах Томской области // В кн.: Вопр. эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. Труды Томского НИИВС и ТМИ. Томск: Изд-во Томского университета. – 1966. – Т. XVII. – С. 35–41.

330. Якименко В. В. Вирус омской геморрагической лихорадки: эпидемиологические и клинические аспекты. В кн.: Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. Новосибирск: Издательство Сибирского отделения РАН. – 2011. – С. 279–295.

331. Якименко В. В. Результаты изучения взаимоотношений вирусов комплекса клещевого энцефалита и гамазовых клещей *Androlaelaps casalis* в эксперименте // Природноочаговые болезни человека (респ. сборник научных трудов). – Омск, 1996 – С. 115–122.

332. Якименко В. В., Богданов И. И., Дрокин Д. А., Калмин О. Б., Тагильцев А. А. Особенности связей членистоногих убежищного комплекса с возбудителями трансмиссивных вирусных инфекций в колониальных поселениях птиц // Паразитология. – 1991. – Т. 25, Вып. 2 – С. 156–162.

333. Якименко В. В., Богданов И. И., Тагильцев А. А. Членистоногие убежищного комплекса в колониальных поселениях береговой ласточки на территории Западной Сибири и Восточного Казахстана // Паразитология. – 1991. – 25 (1). – С. 39–46.

334. Якименко В. В., Дрокин Д. А., Калмин О. Б., Богданов И. И., Иванов Д. И. К вопросу о влиянии host-эффекта на штаммовую изменчивость вируса клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии – М.: Медицина, 1996 – Т. 41, № 3 – С. 112–117.

335. Якименко В. В., Карань Л. С., Малькова М. Г., Матущенко А. А. О возможности микст-инфицирования позвоночных и членистоногих вирусами клещевого энцефалита и омской геморрагической

лихорадки // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита. – М., 2007. – С. 143 – 144.

336. Якименко В. В., Малафеев Ю. М., Рудаков Н. В. и др. К вопросу о существовании вирусов комплекса КЭ и других природноочаговых инфекций в биоценозах Заполярья: Тез. докл. Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики КЭ. – Иркутск, 1990 – С. 60–61.

337. Якименко В. В., Малькова М. Г., Богданов И. И., Танцев А. К. *Ixodes trianguliceps* Vir. на юге Западной Сибири (распространение и некоторые особенности биологии) // Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке : Мат-лы межрегион. научной конф. – Новосибирск, 2002. – С. 222–225.

338. Якименко В. В., Малькова М. Г., Шпынов С. Н. Иксодовые клещи Западной Сибири (Фауна, экология, основные методы исследования). – Омск: ООО «ИЦ «Омский научный вестник», 2013. ISBN 978-5-91306-051-8. – Тир. 500. – 239 с.

339. Якименко В. В., Тагильцев А. А., Рыжановский В. Н. Трансзональная характеристика комплексов колониальных поселений береговых ласточек в Западной Сибири и Казахстане // Орнитология. – Вып. 26. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – С. 76–84.

340. Якименко В. В., Танкибаев М. А. О роли иксодовых клещей *Dermacentor marginatus* в экологии вируса Тягиня // Актуальные аспекты природноочаговых болезней: Мат-лы конф. – Омск, 2001. – С. 69–70.

341. Якименко В. В., Танцев А. К., Березкина Г. В., Старостина О. Ю. Результаты исследования грызунов из сопряженного очага туляремии и омской геморрагической лихорадки в лесостепной зоне Западной Сибири // М-лы IV международной конференции: Идеи Пастера в борьбе с инфекциями. – С-Петербург, 2008. – С. 107.

342. Якименко В. В., Ткачев С. Е., Макенов М. Т., Малькова М. Г., Любенко А. Ф., Рудакова С. А., Щучинова Л. Д., Петрова Ю. А., Танцев А. К., Тикунов А. Ю., Тикунова Н. В. О распространении вируса клещевого энцефалита европейского субтипа в Западной Сибири и на Алтае / ДЖИП, № 27. – 2015. – С. 29–35.

343. Якименко В. В., Ткачев С. Е., Макенов М. Т., Василенко А. Г., Тикунова Н. В. Обнаружение вируса лихорадки Западного Нила на юге Западной Сибири // В: Итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней: Сб. научных трудов. – Тюмень, Изд-во ТГУ, 2015. – Т. 2. – С. 224–232.

344. Якименко В. В., Тузовский П. В., Калмин О. Б., Богданов И. И., Дрокин Д. А., Тагильцев А. А. Водяные клещи Hydrachnidae юга Западной Сибири в связи с их участием в циркуляции арбовирусов // Паразитология. – 1997. – Т. 31, №5. – С. 414–426.

345. Якина Н. Х. особенности возрастного состава популяций таежных клещей в природном очаге клещевого энцефалита в Западной Сибири. // Автореф. дисс. ... канд. наук. – Тюмень, 1998. – 19 с.

346. Якина Н. Х. Особенности развития клещей *Ixodes persulcatus* P. Sch. в разных биотопах. // Мат. обл. науч.-практ. конф., посвященной 80-летию госсанэпидслужбы РФ. – Тюмень, 2002 а. – С. 158–162.

347. Якина Н. Х. Влияние среднего возраста популяции *Ixodes persulcatus* P. Sch. на зараженность клещей. // Мат. VIII Съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Т. 1. – М.: РОСИНЭКС, 2002 б. – С. 426–427.

348. Ястребов В. К., Бусыгин Ф. Ф., Нецкий Г. И., Волынец Л. В., Юрлов К. Т., Григорьев О. В., Григорьева Н. П. Иммунологическая структура к арбовирусам группы В у грачей в лесостепи Западной Сибири // Материалы VI Симпозиума по изучению вирусов, экологически связанных с птицами. – Омск, 1971. – С. 66–68.

349. Ястребов В. К., Бусыгин Ф. Ф., Богданов И. И., Шмельков Ю. А., Юрлов К. Т. Материалы к изучению вирусов, экологически связанных с перелетными птицами, в Барабинской низменности // Вопросы инфекционной патологии (сборник научных трудов). – Омск, 1973. – С. 159–160.

350. Ястребов В. К., Якименко В. В. Омская геморрагическая лихорадка: итоги исследования (1946–2013 гг.) // Вопр. вирусологии. – 2014. – Т. 59. – С. 5–11.

351. Ястребов В. К., Юрлов К. Т. Возможность диссеминации арбовирусов на территории Западной Сибири в связи с данными о миграциях и зимовках западносибирских птиц // В кн.: Трансконтинентальные связи перелетных птиц и их роль в распространении арбовирусов. Наука, СО, Новосибирск, 1978. – С. 167–172.

352. Anishchenko M., Алексеев В. В., Липницкий А. В., Антонов В. А. Молекулярная характеристика вируса лихорадки Западного Нила // Вопр. вирусол. – 2010. – Т. 55, № 1. – С. 4–10.

353. Appler K. K. Persistence of West Nile Virus in the central nervous system and periphery of mice / Appler K. K., Brown A. N., Stewart B. S., Behr M. J., Demarest V. L., Wong S. J. et al. // PLoS ONE (2010). 5(5): e10649.

354. Bagnarelli P., Marinelli K., Trotta D., Monchetti A., Tavio M., Del Gobbo R. et al. Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011. // Euro Surveill. – 2011. – 16 (43).

355. Bakhvalova V. N. Flavivirus Encephalitis / Edited by Daniel Růžek, – P.490, Publisher: InTech, Chapters published October 03 2011 Tick-Borne Encephalitis Virus Quasispecies Rearrangements in Ticks and Mammals, Flavivirus Encephalitis / Bakhvalova V. N., Panov V. V. and Morozova O. V. // – 2011. ISBN: 978-953-307-669-0, InTech, DOI: 10.5772/20744. – URL: <http://www.intechopen.com/books/flavivirus-encephalitis/tick-borne-encephalitis-virus-quasispecies-rearrangements-in-ticks-and-mammals>

356. Belalov I. S. Causes and Implications of Codon Usage Bias in RNA Viruses / I.S. Belalov, A. N. Lukashev // PLOS ONE. 2013; 8 (2). – URL: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0056642>.
357. Belikov S., Kondratov I. G., Potapova U. V., Leonova G.N. The Relationship between the Structure of the TickBorne Encephalitis Virus Strains and Their Pathogenic Properties // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9(4). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3989262/pdf/pone.0094946.pdf>
358. Bertrand Y. First Dating of a Recombination Event in Mammalian Tick-Borne Flaviviruses / Y. Bertrand, M. Topel, A. Elvang, W.Melik, M. Johansson // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7(2). – URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031981>
359. Best S. M., Morris K. L., Shannon J. G., Robertson S.J., Mitzel D. N., Park G. S., Boer E., Wolfenbarger J. B., Bloom M. E. Inhibition of Interferon-Stimulated JAK-STAT Signaling by a Tick-Borne Flavivirus and Identification of NS5 as an Interferon Antagonist // J Virol. – 2005. – Vol. 79(20). – P. 12828–12839.
360. Bhardwaj S. Biophysical Characterization and Vector-Specific Antagonist Activity of Domain III of the Tick-Borne Flavivirus Envelope Protein / S. Bhardwaj, M. Holbrook, R.E. Shope, A.D.T. Barrett, S. J. Watowich // Journal Of Virology. – 2001. – Vol. 75(8). – P. 4002–4007.
361. Biebricher C. K. and Eigen M. (2006). What is a quasispecies? Curr. Top. Microbiol. Immunol. – V. 299, – P. 1–31.
362. Bondre V. P., Jadi R., Mishra A., Yergolkar P., Arankalle V. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage // J. Gen. Virol. 2007; 88:875–84. <http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.82403-0>
363. Botstein D. A theory of modular evolution for bacteriophages. / D.Botstein // Ann. N. Y. Acad. Sci. –1 980. – Vol. 354. – P. 484–491.
364. Bourne N.; Scholle F.; Silva M. C.; Rossi S. L.; Dewsbury N.; Judy B.; De Aguiar J. B.; Leon M. A.; Estes D. M.; Fayzulin R.; Mason P.W. Early production of type I interferon during West Nile virus infection: Role for lymphoid tissues in IRF3-independent interferon production // J. Virol. – 2007, 81, 9100–9108.
365. Byrne S. N.; Halliday G.M.; Johnston L. J.; King N. J. Interleukin-1beta but not tumor necrosis factor is involved in West Nile virus-induced Langerhans cell migration from the skin in C57BL/6 mice. // J. Invest. Dermatol. – 2001, 117, 702–709.
366. Cardinale D. J. Base Composition and Translational Selection are Insufficient to Explain Codon Usage Bias in Plant Viruses / D. J. Cardinale, K. DeRosa, S. Duffy // Viruses. – 2013. – Vol. 5 (1). – P. 162–81.
367. Chambers T. J. Flavivirus genome organization, expression and replication/ T. J. Chambers, C. S. Hahn, R. Galler, C. M. Rice // Ann. Rev. Microbiol. – 1990. – Vol. 44. – P. 649–688.

368. Colpitts T. M.; Conway M. J.; Montgomery, R. R.; Fikrig E. West Nile virus: Biology, transmission, and human infection // *Clin. Microbiol. Rev.* 2012, 25, 635–648.

369. Dai X., Shang G., Lu S., Yang J., Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China // *Emerg Microbes Infect.* – 2018. V. 7(1): 74. DOI: 10.1038/s41426-018-0081-6.

370. Daniel Ružek, Valeriy V. Yakimenko, Lyudmila S. Karan, and Sergey E. Tkachev Omsk Hemorrhagic Fever // *Viral Hemorrhagic Fevers*; Editor Sunit K. Singh, Daniel Ruzek. – CRC Press: Taylor & Francis Group, 2013. – P. 553–559. ISBN-13: 978-1439884294; ISBN-10: 1439884293.

371. Dedkov V. G., Markelov M. L., Gridneva K. A., Bekova M. V., Gmyl A. P., Kozlovskaya L. I., Karganova G. G., Romanova L. Iu., Pogodina V. V., Yakimenko V. V., Shipulin G. A. Prevalence of Kemerovo virus in ixodid ticks from the Russian Federation // *Ticks and Tick-borne Diseases.* – 2014. V. 5, Issue 6. P. 651–655. DOI: 10.1016 / j.ttbdis.2014.04.017.

372. Demina T. V., Dzhioev Yu. P., Verkhozina M. M., Kozlova I. V., Tkachev S. E., Plusnin A. Z., Doroshenko E. K., Lisak O. V., Zlobin V. I. Genetic variability research and genotyping of tick-borne encephalitis virus by means of desoxyoligonucleotide probes // *J. of Medical Virology.* – 2010. – №82. – P. 965–976.

373. Demina T. V., Tkachev S. E., Kozlova I. V., Doroshchenko E. K., Lisak O. V., Suntsova O. V., Verkhozina M. M., Dzhioev Y. P., Paramonov A. I., Tikunov A. Y., Tikunova N. V., Zlobin V. I., Ruzek D. Comparative analysis of complete genome sequences of European subtype tick-borne encephalitis virus strains isolated from *Ixodes persulcatus* ticks, long-tailed ground squirrel (*Spermophilus undulatus*), and human blood in the Asian part of Russia. // *Ticks Tick Borne Dis.* 2017 Jun; 8(4): 547–553. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.03.002. – Epub 2017 Mar 9.

374. Dittmar K. A., Goodenbour J. M., Pan T. Tissue-Specific Differences in Human Transfer RNA Expression. *PLoS Genetics.* – 2006; 2 (12). Available at: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.0020221>.

375. Dodd K. A., Bird B. H., Khristova M. et al. Ancient ancestry of KFDV and AHFV revealed by complete genome analyses of viruses isolated from ticks and mammalian hosts. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5: e1352.

376. Domingo E. Nucleotide sequence heterogeneity of an RNA phage population / E. Domingo, D. Sabo, T. Tanaguchi, C. Weissmann // *Cell.* – 1978. – Vol. 13. – P. 735–744.

377. Domingo E. Quasispecies Structure and Persistence of RNA Viruses / E. Domingo, E. Baranowski, C. M. Ruiz-Jarabo, A. M. Martin-Hernandez, J. C. Saiz, C. Escarmis // *Emerging Infectious Diseases.* – 1998. – Vol. 4 (4). – P. 521–527.

378. Donadieu E., Bahuon C., Lowenski S., Zientara S., Couplier M., Lecollinet S. Differential Virulence and Pathogenesis of West Nile Viruses // *Viruses*. – 2013, 5, 2856-2880; doi:10.3390/v5112856
379. Drummond D. A. The evolutionary consequences of erroneous protein synthesis/ D. A. Drummond, C. O. Wilke // *Nat.Rev.Genet.* – 2009. – Vol. 10 (10). – P. 715–724.
380. Dunster L. M. Attenuation of virulence of flaviviruses following passage on HeLa cells/ L. M. Dunster, C. A. Gibson, J.R.Stephenson // *J.gen.Virol.* – 1990. –Vol. 71. – P. 601–607.
381. Edwards R. A. Viral Metagenomics / R. A. Edwards, F. Rohwer // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2005. –Vol. 3. –P. 504–510.
382. Eigen M. The molecular quasi-species / M. Eigen, J. McCaskill, P. Schuster // *Adv Chem Phys* –1989. – Vol. 75. – P.149–263.
383. European Centre for Disease Prevention and Control, 2014. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data?s=2014>.
384. Filomatori C. V. 5' RNA element promotes dengue virus synthesis on a circular genome / C. V. Filomatori, M.F.Lodeiro, D.E.Alvarez et al. // *Genes Dev.* – 2006. – Vol. 20. – P. 2238–2249.
385. Finn R. D. The Pfam protein families database. / R. D. Finn, J. Mistry, J. Tate, P. Coggill, et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2010. –Vol. 38 (Database issue). – P. D211–D222.
386. Fiona J. May, C. Todd Davis, Robert B. Teshand Alan D. T. Barrett. Phylogeography of West Nile Virus: from the Cradle of Evolution in AfricatoEurasia, Australia, and the Americas // *J. Virol.* – 2011. – Vol. 85(6) – P. 2964.
387. Frias D. Human Retrovirus codon Usage from tRNA point of View: Therapeutic Insights. / D. Frias, J. P. Monteiro-Cunha, A. C. Mota-Miranda, V. S. Fonseca, T. Oliveira, B. Galvao-Castro, L. C. J. Alcantara // *Bioinformatics and Biology Insights.* – 2013. –Vol. 7. – P. 335–45.
388. Gibbs A. Molecular evolution of viruses; 'trees', 'clocks' and 'modules' / A. Gibbs, // *J. Cell Sci.* – 1987. – Suppl. 7. – P. 319–337.
389. Gibbs S. E., A. E. Ellis, D. G. Mead, A. B. Allison, J. K. Moulton, E. W. Howerth, and D. E. Stallknecht. 2005. West Nile virus detection in the organs of naturally infected blue jays (*Cyanocitta cristata*). *J. Wildl. Dis.* 41: 354–362.
390. Gingold H. Dynamic changes in translational efficiency are deduced from codon usage of the transcriptome / H. Gingold, O. Dahan, Y.Pilpel // *Nucleic Acids Research.* – 2012. – Vol. 40 (20). – P. 10053–10063.
391. Gould E. A., De Lamballerie X., De Zotto A., Holmes E. C. Flavivirus evolution // *Proceedings of the 3th International conference «Ticks and tick-borne Pathogens: into the 21st century»*, Bratislava. – 2000. – P. 1–9.
392. Grantham R. Codon catalog usage and the genome hypothesis. / R.Grantham, C.Gautier, M.Gouy, R.Mercier, A.Pave // *Nucleic Acids Res.* – 1980. – Vol. 9 (1). – P. 49–62.

393. Grard G. Genetic characterization of tick-borne flaviviruses: New insights into evolution, pathogenetic determinants and taxonomy / G. Grard, G. Moureau, R. N. Charrel, J. Lemasson, J. Gonzalez, P. Gallian, T. S. Gritsun, E. C. Holmes, E. A. Gould, X. de Lamballerie // *Virology*. – 2007. – Vol. 361. – P. 80–92.

394. Gray T. J., Webb C. E. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus // *International Journal of General Medicine*. 2014;7 193–203.

395. Greenbaum B. D. Quantitative theory of entropic forces acting on constrained nucleotide sequences applied to viruses / B. D. Greenbaum, S. Cocco, A. J. Levine, R. Monasson // *PNAS*. – 2014. – Vol. 111(13). – P. 5054–5059.

396. Gritsun T. S., Lashkevich V. A., Gould E. A. // *Antiviral. Res.* – 2003. – 57(1–2). – P. 129–146

397. Gritsun T. S., Lashkevich, V. A., Gould, E. A. Nucleotide and deduced amino acid sequence of the envelope glycoprotein of Omsk haemorrhagic fever virus; comparison with other flaviviruses// *J. Gen. Virol.* – 1993 – Vol. 74. – P. 278–291.

398. Hayasaka D. Phylogenetic and virulence analysis of tick-borne encephalitis viruses from Japan and far-eastern Russia. / D. Hayasaka, Y. Suzuki, H. Kariwa, et al. // *J. Gen. Virology*. – 1999. – Vol. 80. – P. 3127–3135.

399. Hayes E. B.; Komar N.; Nasci R. S.; Montgomery S. P.; O’Leary D. R.; Campbell G. L. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerging Infect. Dis.* 2005, 11, 1167–1173.

400. Heinze D. M., Gould E. A., Forrester N. L. Revisiting the clinal concept of evolution and dispersal for the tick-borne flaviviruses using phylogenetic and biogeographic analyses. *J. Virol.* 2012; 86: 8663-8671.

401. Hernández-Triana L. M., Jeffries C. L., Mansfield K. L., Carnell G., Fooks A. R., Johnson N. // *Front Public Health*. 2014 Dec 8;2:271. doi: 10.3389/fpubh.2014.00271. eCollection 2014. Review.

402. Holmes E. C. The RNA Virus Quasispecies: Fact or Fiction? / E. C. Holmes // *J. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 400. – P. 271–273.

403. Hublek Z., Halouzka J., Juricová Z., Sebesta O. First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic // *Acta Virol.* – 1998; 42(2): 119–20.

404. Huson D. H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. / Huson, D. H., Bryant D. // *Mol. Biol. Evol.* – 2006. – Vol. 23. – P. 254–267.

405. Jenkins G. M. Rates of Molecular Evolution in RNA Viruses: A Quantitative Phylogenetic Analysis / G. M. Jenkins, A. Rambaut, O. G. Pybus, E. C. Holmes // *J. Mol. Evol.* – 2002. – Vol. 54. – P. 156–165.

406. Jiang J. Cell Culture-Adaptive Mutations Promote Viral Protein-Protein Interactions and Morphogenesis of Infectious Hepatitis C Virus / J. Jiang, G. Luo // *J. Virol.* – 2012. – Vol. 86 (17). – P. 8987–8997.

407. Johnston L. J.; Halliday G. M.; King N. J. Phenotypic changes in Langerhans' cells after infection with arboviruses: A role in the immune response to epidermally acquired viral infection? *J. Virol.* 1996, 70, 4761–4766.

408. Karan Liudmila S., Ciccozzi Massimo, Yakimenko Valerii V., Lo Presti Alessandra, Cella Eleonora, Zehender Gianguglielmo, Rezza Giovanni, Platonov Alexander E. The Deduced Evolution History of Omsk Hemorrhagic Fever Virus // *J. Med. Virol.* DOI 10.1002/jmv, 2013. p. 1–7.

409. Karev G. P. Birth and Death of Protein Domains: A Simple Model of Evolution Explains Power Law Behavior / G. P. Karev, Y. I. Wolf, A. Y. Rzhetsky et al. // *BMC Evol. Biol.* – 2002. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC137606/>

410. Khasnatinov M.A. Non-Hemagglutinating Flaviviruses: Molecular Mechanisms for the Emergence of New Strains via Adaptation to European Ticks/ M. A. Khasnatinov, K. Ustanikova, T. V. Frolova, V. V. Pogodina, N. G. Bochkova, L. S. Levina, M. Slovak, M. Kazimirova, M. Labuda, B. Klempa, E. Eleckova, E. A. Gould, T. S. Gritsun // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4 (10). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2750751/>

411. Koonin E. V. Constraints and Plasticity in Genome and Molecular – Phenome Evolution / E.V. Koonin, Y.I. Wolf // *Nat. Rev. Genet.* –2010. – Vol. 11 (7). – P. 487–498.

412. Koonin E. V. Evolutionary Systems Biology: Links Between Gene Evolution and Function/ E. V. Koonin and Y. I. Wolf // *Current Opinion in Biotechnology.* 2006. – Vol. 17 (5). – P. 481–487.

413. Kovalev S. Y. Origin and distribution of tick-borne encephalitis virus strains of the Siberian subtype in the Middle Urals, the north-west of Russia and the Baltic countries/ S. Y. Kovalev, D. N. Chernykh, V. S. Kokorev, T. E. Snitkovskaya, V. V. Romanenko // *Journal of General Virology.* – 2009. – Vol. 90. – P. 2884–2892.

414. Kozlova I. V., Demina T. V., Tkachev S. E., Doroshchenko E. K., Lisak O. V., Verkhozina M. M., Karan L. S., Dzhioev Yu. P., Paramonov A. I., Suntsova O. V., Savinova Yu. S., Chernoiivanova O. O., Ruzek D., Tikunova N. V., Zlobin V. I. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus circulating in Eastern Siberia // *Acta Biomedica Scientifica.* – 2018. – T. 3. – № 4. – C. 53–60.

415. Kuiken C. L. Consistent risk group-associated differences in human immunodeficiency virus type 1 vpr, vpu and V3 sequences despite independent evolution. / C. L. Kuiken, M. T. E. Cornelissen, F. Zorgdrager, S. Hartman, A. J. Gibbs, J. Goudsmit // *J. Gen. Virol.* – 1996. – Vol. 77. – P. 783–792.

416. Kuno G., Chang K., Gwong-Jen J., Tsuchiya R., Karabatsos N., Cropp C. B. Phylogeny of the genus *Flavivirus* // *J. Virology.* – 1998. – Vol. 72. – P. 73–83.

417. Le Breton M. Flavivirus NS3 and NS5 proteins interaction network: a high-throughput yeast two-hybrid screen / M. Le Breton, L. Meyniel-Schicklin, A. Deloire, B. Coutard et al. // BMC Microbiology. – 2011. – Vol. 11. URL- <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/11/234>.

418. Lebedeva N. N., Korenberg E. I. Distribution of *Haemaphysalis concinna* Koch in the Soviet Union and some general features of its ecology // Folia parasitol., 1981. 28 (3) : 249–261.

419. Lee E. Changes in the Dengue Virus Major Envelope Protein on Passaging and Their Localization on the Three-Dimensional Structure of the Protein / E. Lee, R. C. Weir, L. Dalgarno // Virology. – 1997. – Vol. 232. – P. 281–290.

420. Libikova H. Viremia in mice experimentally infected by the Kemerovo virus and specific European viruses. // Acta virol. – 1966. – V. 10. – 554–556.

421. Libikova H., Mayer V., Kozuch O., Rehacek J., Ernek E., Albrecht P. Isolation of cytopathic agents (Kemerovo virus) from ticks *Ixodes persulctus*, which differ from tick-borne encephalitis virus, and some of their properties. // Acta virol. – 1964. – V. 8. – 289–301.

422. Libikova H., Rehacek J., Mayer V. Viruses related to the Kemerovo virus, isolated in Czechoslovakia from ticks *Ixodes ricinus*. // Acta virol. – 1965. – V. 9. – 76–82.

423. Lim P.-Y.; Behr M. J.; Chadwick C. M.; Shi P.-Y.; Bernard K. A. Keratinocytes are cell targets of West Nile Virus in vivo. J. Virol. – 2011, 85, 5197–5201.

424. Limon-Flores A. Y., Perez-Tapia M., Estrada-Garcia I., Vaughan G., Escobar-Gutierrez A., Calderon-Amador J., Herrera-Rodriguez S. E., Brizuela-Garcia A., Heras-Chavarria M., Flores-Langarica A.; et al. Dengue virus inoculation to human skin explants: An effective approach to assess in situ the early infection and the effects on cutaneous dendritic cells. Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2005, 86, 323–334.

425. Lindebach B. D., Thiel H.-J., Rice C. M. Flaviviridae: The viruses and their replication / B. D. Lindebach, H.-J. Thiel, C. M. Rice // Fields Virology. – 2007. – Vol. 1. – P. 1101–1152.

426. Lindenbach B. D. Genetic Interaction of Flavivirus Nonstructural Proteins NS1 and NS4A as a Determinant of Replicase Function / B. D. Lindenbach, C. M. Rice // J. of Virology. – 1999. – Vol. 73 (6). – P. 4611–4621.

427. Lindenbach B. D., Rice C. M. 2003. Molecular biology of flaviviruses. Advances in Virus Research 59, 23–61.

428. Liu Y. Molecular clock-like evolution of human immunodeficiency virus type 1 / Y. Liu, D. C. Nickle, D. Shriner, M. A. Jensen, G. H. Learn Jr., J. E. Mittler, J. I. Mullins // Virology. – 2004. – Vol. 329. – P. 101–108.

429. Lobkovsky A. E. Gene Frequency Distributions Reject a Neutral Model of Genome Evolution / A. E. Lobkovsky, Y. I. Wolf, E. V. Koonin // Genome Biol. Evol. – 2013. – Vol. 5 (1). – P. 233–242.

430. Lobkovsky A. E. Universal Distribution of Protein Evolution Rates As a Consequence of Protein Folding Physics / A. E. Lobkovsky, Y. I. Wolf, E. V. Koonin // *Proc Natl Acad Sci USA* – 2010. – Vol. 107 (2). – P. 2983–2988.

431. Lorenz I. C. Folding and Dimerization of Tick-Borne Encephalitis Virus Envelope Proteins prM and E in the Endoplasmic Reticulum / I. C. Lorenz, S.L. Allison, F.X. Heinz, A. Helenius // *J. of Virology*. – 2002. – Vol. 76 (11). – P. 5480–5491.

432. Luis M. Hernández-Triana, Claire L. Jeffries, Karen L. Mansfield, George Carnell, Anthony R. Fooks, Nicholas Johnson. Emergence of West Nile virus lineage 2 in Europe: a review on the introduction and spread of a mosquito-borne disease // *Front Public Health*. 2014 Dec 8; 2:271. doi: 10.3389 / fpubh.2014.00271.

433. Lukashov V. V., Goldsmith J. Recent evolutionary history of human immunodeficiency virus type 1 subtype B: reconstruction of epidemic onset based on sequence distances to the common ancestor / V. V. Lukashov, J. Goldsmith // *J. Mol. Evol.* – 2002. – Vol. 54. – P. 680–691.

434. Lvov D. K., Butenko A. M., Gromashevsky V. L., Kovtunov A. I., Prilipov A. G., Kinney R., Aristova V. A., Dzharkenov A. F., E.I., Savage H. M., Shchelkanov M. Y., Galkina I. V., Deryabin P. G., Gubler D. J., Kulikova L. N., Alkhovsky S. K., Moskvina T. M., Zlobina L. V., Sadykova G. K., Shatalov A. G., Lvov D. N., Usachev V. E., Voronina A. G. West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations // *Arch Virol Suppl*. 2004; (18): 85–96.

435. Machain-Williams C.; Padilla-Paz S.E.; Weber M.; Cetina-Trejo R.; Juarez-Ordaz J. A.; Loroco-Pino M. A.; Ulloa A.; Wang C.; Garcia-Rejon J.; Blitvich B. J. Antibodies to West Nile virus in wild and farmed crocodiles in Southeastern Mexico. *J. Wildl. Dis.* 2013, 49, 690–693.

436. Mandl C. W. Adaptation of Tick-Borne Encephalitis Virus to BHK-21 Cells Results in the Formation of Multiple Heparan Sulfate Binding Sites in the Envelope Protein and Attenuation In Vivo / C. W. Mandl, H. Kroschewski, S. L. Allison, R. Kofler, H. Holzmann, T. Meixner, F. X. Heinz // *J. Virology*. – 2001. – Vol. 75 (12). – P. 5627–5637.

437. Mandl C. W. , Heinz F. X., Kunz Ch. Sequence of the structural protein of tick-borne encephalitis virus (western subtype) and comparative analysis with other flaviviruses // *Virology*. – 1998. – Vol. 166. – P. 197–205.

438. Mandl C. W., Heinz F. X., Stoke E., Kunz Ch. Genomic sequence of tick-borne encephalitis virus (western subtype) and comparative analysis of nonstructural protein with other flaviviruses // *Virology*. – 1999. – Vol. 173. – P. 291–301.

439. Marin M. S. Phylogeny of TYU, SRE, and CFA virus: different evolutionary rates in the genus *Flavivirus*/ M. S. Marin, P. M. Zanotto, T. S. Gritsun, E. A. Gould // *Virology*. – 1995. – Vol. 206 (2). – P. 1133–1139.

440. McGee C. E. Stability of Yellow Fever Virus under Recombinatory Pressure as Compared with Chikungunya Virus // C. E. McGee, K. A. Tsetsarkin, B. Guy, J. Lang, K. Plante, D. L. Vanlandingham, S. Higgs / PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6 (8). – URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0023247>

441. McMin P. S. Neurovirulence and neuroinvasiveness of Murray Valley encephalitis virus mutants selected by passage in a monkey kidney cell line / P. S. McMin, I. D. Marshall, L. Dalgarno // J. gen. Virol. – 1995. – Vol. 76. – P. 865–872.

442. Moosavi F. Analysis of synonymous codon usage bias and nucleotide and amino acid composition in 13 species of Flaviviridae / F. Moosavi, H. Mohabatkar, S. Mohsenzadeh // Journal of Cell and Molecular Research. – 2011. – Vol. 3 (1). – P. 1–11.

443. Murray C. L. Architects of assembly: roles of Flaviviridae non-structural proteins in virion morphogenesis / C. L. Murray, C. T. Jones, C. M. Rice // Nat. Rev. Microbiol. – 2008. – Vol. 6 (9). – P. 699–708.

444. Nei M., Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics / M Nei, S. Kumar. Oxford, university press. – 2000. – 334 p.

445. Nemeth N., Young G., Ndaluka C., Bielefeldt-Ohmann H., Komar N., Bowen R. (2009) Persistent West Nile virus infection in the house sparrow (*Passer domesticus*). Arch. Virol. – 154 (5): 783–789.

446. Nougai A., Fabritius L., Aubry F., Gould E. A., Holmes E. C., Lamballerie X. Random Codon Re-encoding Induces Stable Reduction of Replicative Fitness of Chikungunya Virus in Primate and Mosquito Cells. PLOS Pathogens. 2013; 9 (2). – URL: <http://www.plospathogens.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1003172>.

447. Op de Coul. Using phylogenetic analysis to trace HIV-1 migration among western European injecting drug users seroconverting from 1984 to 1997. / E. L. Op de Coul, M. Prins, M. Cornelissen, A. van der Schoot, A. Boufassa, R. P. Brettell, L. Hernández-Aguado, V. Schiffer, J. McMenamin, G. Rezza, R. Robertson, R. Zangerle, J. Goudsmit, R. A. Coutinho, V. V. Lukashov // AIDS. – 2001. – Vol. 15 (2). – P. 257–266.

448. Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010 / Sirbu A, Ceianu CS, Panculescu-Gatej RI, Vazquez A, Tenorio A, Rebreanu R, et al. // Euro Surveill. – 2011. – 16 (2).

449. Palmer D. R.; Sun P.; Celluzzi C.; Pang S.; Sun W.; Marovich M. A.; Burgess T.; Bisbing J. Differential effects of dengue virus on infected and bystander dendritic cells. J. Virol. 2005, 79, 2432–2439.

450. Panella N. A., A. J. Kerst, R. S. Lanciotti, P. Bryant, B. Wolf and N. Komar. 2001. Comparative West Nile virus detection in organs of naturally infected American crows (*Corvus brachyrhynchos*). Emerg. Infect. Dis. 7: 754–755.

451. Park G.S., Morris K.L., Hallett R.G., Bloom M.E., Best S.M. Identification of Residues Critical for the Interferon Antagonist Function

of Langkat Virus NS5 Reveals a Role for the RNA-Dependent RNA Polymerase Domain. // *J Virol.* – 2007. – Vol. 81 (13). – P. 6936–6946.

452. Perriere G. Use and misuse of correspondence analysis in codon usage studies/ G.Perriere, J.Thioulouse // *Nucleic Acids Research.* – 2002. – Vol. 30 (20). – P. 4548–55.

453. Pfafferott K. Constrained Pattern of Viral Evolution in Acute and Early HCV Infection Limits Viral Plasticity / K. Pfafferott, S. Gaudieri, A. Ulsenheimer, I. James, M. Heeg, D. Nolan, M. John, A. Rauch, S. Malla, A. Lucas, P. Klenerman, H. M. Diepolder, M. Lucas // *PLoS ONE.* –2011. – Vol. 6 (2). – URL: [http:// www.plosone.org/article/ fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0016797&representation=PDF](http://www.plosone.org/article/ fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0016797&representation=PDF).

454. Pickett B. E. Recombination in West Nile Virus: minimal contribution to genomic diversity/ B. E.Pickett, E. J. Lefkowitz // *Virology Journal.* – 2009. – Vol. 6:165 d. URL– <http://www.virologyj.com/content/6/1/165>.

455. Plotkin J. B. Tissue-specific codon usage and the expression of human genes./J. B. Plotkin, H. Robins, A. J. Levine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101. – P. 12588–91.

456. Posada D. Unveiling the Molecular Clock in the Presence of Recombination / D. Posada // *Mol. Biol. Evol.* – 2001. – Vol. 18 (10). – P. 1976–1978.

457. Qian W. Balanced Codon Usage Optimizes Eukaryotic Translational Efficiency / W.Qian, J-R.Yang, N.M.Pearson, C.Maclean, J.Zhang // *PLoS Genet.* – 2012; 8 (3). – URL: <http://www.plosgenetics.org/article/-info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1002603>.

458. Qin X.-C. A tick-borne segmented RNA virus contains genome segments derived from unsegmented viral ancestors / X.-C. Qin, M. Shi, J.-H. Tian, X.-D. Lin, D.-Y. Gao, J.-R. He, J.-B. Wang, C.-X. Li, Y.-J. Kang, B. Yu, D.-J. Zhou, J. Xu, A. Plyusnin, E.C. Holmes, Y.-Z. Zhang // *PNAS.* – 2014. – Vol. 111 (18). – P. 6744–6749.

459. Reagan K. L.; Machain-Williams C.; Wang T.; Blair C. D. Immunization of mice with recombinant mosquito salivary protein D7 enhances mortality from subsequent West Nile virus infection via mosquito bite. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012, 6, e1935.

460. Rey F. A. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2E resolution / F.A.Rey, F.X.Heinz, C.W. Mandl et al. // *Nature.* – 1995. – Vol. 375. – P. 291–298.

461. Romanova L. Iu., Gmyl A. P., Dzhivaniyan T. I., Bakhmutov D. V., Lukashev A. N., L. V., Rummyantsev A. A., Burenkova L. A., Lashkevich V. A., Karganova G. G. (2007) Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation. *Virology.* V. 362(1), P. 75–84.

462. Rossi S.L., Fayzulin R., Dewsbury N., Bourne N., Mason P. W. (2007) Mutations in West Nile virus nonstructural proteins that facilitate replicon persistence in vitro attenuate virus replication in vitro and in vivo. *Virology* 364(1): 184–95.

463. Ruzek D., Yakimenko V. V., Karan L. S., Tkachev S. E., Grubhoffer L. Omsk haemorrhagic fever [Text]/ Ed.: D. Liu // *Molecular Detection of Human Viral Pathogens*. – 2011 by Taylor and Francis Group, LLC. – P. 231–240.

464. Samuel M.A., Diamond M.S. Pathogenesis of West Nile Virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion. *J Virol* 2006; 80: 9349–9360 [PMID: 16973541 DOI: 10.1128/JVI.01122–06]

465. Scheel T. K. H. Productive Homologous and Non-homologous Recombination of Hepatitis C Virus in Cell Culture / T. K. H. Scheel, A. Galli, Y. Li, L. S. Mikkelsen, J. M. Gottwein, J. Bukh // *PLoS Pathogen*. – 2013. – Vol. 9 (3). – URL: <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1003228>

466. Schierup M. H. Recombination and the Molecular Clock / M. H Schierup, J. Hein // *Mol. Biol. Evol.* – 2000. – Vol. 17 (10). – P. 1578–1579.

467. Schneider B. S. Prior exposure to uninfected mosquitoes enhances mortality in naturally-transmitted West Nile virus infection/ Schneider B. S.; McGee C. E.; Jordan J. M.; Stevenson H. L.; Soong L.; Higgs S. // *PLoS One* 2007, 2, e1171.

468. Schubert A. M. Evolution of the sequence composition of Flaviviruses. / A. M. Schubert, C. Putonti // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2010. – Vol. 10 (1). – P. 129–36.

469. Sella G. The Application of Statistical Physics to Evolutionary Biology / G. Sella, F. T. Hirsh // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2005. – Vol 102 (27). –P. 9541–9546.

470. Shah P. Explaining complex codon usage patterns with selection for translational efficiency, mutation bias, and genetic drift / P. Shah, M.A.Gilchrist // *PNAS*. – 2011. – Vol. 108 (25). – P. 10231–6.

471. Sharp P. M. Codon usage in yeast cluster-analysis clearly differentiates highly and lowly expressed genes / P. M. Sharp, T. M. F. Tuohy, K. R. Mosurski // *Nucleic Acids Research*. – 1986. – Vol. 14. – P. 5125–5143.

472. Simmonds P. Structural Constraints on RNA Virus Evolution / P. Simmonds, D. B. Smith // *Journal of Virology*. – 1999. – Vol. 73. – P. 5787–5794.

473. Sironen T. Quasispecies dynamics and fixation of a synonymous mutation in hantavirus transmission / T. Sironen, E. R. Kallio, A. Vaheri, A. Lundkvist, A. Plyusnin // *Journal of General Virology*. – 2008. – Vol. 89. – P.1309–1313.

474. Smithburn K. C.; Hughes T. P.; Burke A. W.; Paul J. H. Aneurotropic virus isolated from the blood of anative of Uganda// *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1940, 20, 471–492.

475. Styer L. M.; Kent K. A.; Albright R. G.; Bennett C. J.; Kramer L. D.; Bernard K. A. Mosquitoes inoculate high doses of West Nile virus as they probe and feed on live hosts. // *PLoS. Pathog.* 2007, 3, 1262–1270.

476. Styer L. M.; Lim P.-Y.; Louie K. L.; Albright R. G.; Kramer L. D.; Bernard K. A. Mosquito saliva causes enhancement of West Nile virus infection in mice. // *J. Virol.* – 2011, 85, 1517–1527.

477. Su M. W. Categorizing Host-Dependent RNA Viruses by Principal Component Analysis of Their Codon Usage Preferences. / M. W. Su, H. M. Lin, H. S. Yuan, W. C. Chu // *Journal Of Computational Biology.* – 2009. – Vol. 16 (11). – P. 1539–47.

478. Suzuki Y. Multiple transmission of tick-borne encephalitis virus between Japan and Russia./ Y.Suzuki//*Genes Genet.Syst.* – 2007. – Vol. 82. – P. 187–185.

479. 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. – V. 28, № 10. – P. 2731–2739.

480. Tello M. Analysis of the use of codon pairs in the HE gene of the ISA virus shows a correlation between bias in HPR codon-pair use and mortality rates caused by the virus./ M. Tello, J. M. Saavedra, E. Spencer // *Virology Journal.* – 2013. – Vol. 10. – URL: <http://www.virologyj.com/content/10/1/180>.

481. Thurner C. Conserved RNA secondary structures in Flaviviridae genomes / C. Thurner, C. Witwer, I. L. Hofacker, P. F. Stadler // *Journal of General Virology.* – 2004. – Vol. 85. – P. 1113–1124.

482. Tikhomirova T. P., Reingold V. N., Rubin S. G., Gavrilovskaya I. N., Shestopalova N. M. Electron-microscopic study of the virion structure in B group arboviruses by the negative staining method// *Vop. Virus.* –1971. – №2. – P. 92–93.

483. Tkachev S. E., Tikunov A. Yu., Babkin I. V., Livanova N. N., Livanov S. G., Panov V. V., Yakimenko V. V., Tantsev A. K., Taranenko D. E., Tikunova N. V. Occurrence and genetic variability of Kemerovo virus in Ixodes ticks from different regions of Western Siberia, Russia and Kazakhstan // *Infection, Genetics and Evolution.* – 2017. – V. 47. – P. 56–63. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.11.007

484. Tkachev S. E., Chicherina G. S., Golovljova I., Belokopytova P. S., Tikunov A. Yu., Zadora O. V., Glupov V. V., Tikunova N. V. New genetic lineage with the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus found in Western Siberia, Russia // *Infection, Genetics and Evolution.* – 2017. – T. 56. – C. 36–43.

485. Tsai T. F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G. L., Nedelcu N. I. West Nile Encephalitis Epidemic in Southeastern Romania// *Lancet.* 1998. 352(9130): 767–71.

486. Tuplin A. Replication enhancer elements within the open reading frame of tick-borne encephalitis virus and their evolution within the Flavivirus genus/ A. Tuplin [et al.] // *Nucleic Acids Research.* – 2011. – Vol. 39 (16). – P. 7034–7048.

487. Uzcategui N. Y. Rate of evolution and molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus in Europe, including two isolations from the same focus 44 years apart. / N. Y. Uzcategui, T. Sironen, I. Golovljova, A. E. Jääskeläinen, Hannamari Välimaa, A. Lundkvist, A. Plyusnin, A. Vaheri, O. Vapalahti // *Journal of General Virology*. – 2012. – Vol. 93. – P. 786–796.

488. Vazquer A., Sanchez-Seco M. P., Ruiz S., Molero F., Hernandez L., Moreno J., Magallanes A., Tejedor C. G., Tenorio A. Putative new lineage of West Nile virus, Spain // *Emerg. Infect. Dis.* 2010, 16, 549–552.

489. Wagner A. Neutralism and Selectionism: A Network-Based Reconciliation / A. Wagner // *Nat Rev Genet.* – 2008. – Vol. 9 (12). – P. 965–74.

490. Weidmann M. Relation of genetic phylogeny and geographical distance of tick-borne encephalitis virus in central Europe / M. Weidmann, Ruzek, K. Krivanec, G. Zoller, S. Essbauer, M. Pfeffer, P. M. de A. Zanotto, F. T. Hufert and G. Dobler // *Journal of General Virology*. – 2011. – Vol. 92. – P. 1906–1916.

491. Wolf Y. I. Relative Contributions of Intrinsic Structural–Functional Constraints and Translation Rate to the Evolution of Protein-Coding Genes / Y. I. Wolf, I. V. Gopich, D. J. Lipman, E. V. Koonin // *Genome Biol. Evol.* – 2010. – Vol. 2. – P. 190–199.

492. Wong E. H. M. Codon usage bias and the evolution of influenza A viruses. Codon Usage Biases of Influenza Virus / E. H. M. Wong, D. K. Smith, R. Rabadan, M. Peiris, L. L. M. Poon // *BMC Evolutionary Biology*. – 2010. – Vol. 253 (10). – URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/253>.

493. Worobey M. Widespread intra-serotype recombination in natural populations of dengue virus. / M. Worobey, A. Rambaut, EC. Holmes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1999. – Vol. 96. – P.7352–7357.

494. Wu S. J.; Grouard-Vogel G.; Sun W.; Mascola J. R.; Brachtel E.; Putvatana R.; Louder M. K.; Filgueira L.; Marovich M. A.; Wong H. K.; et al. Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection.// *Nat. Med.* 2000, 6, 816–820.

495. Wunschmann A., J. Shivers, L. Carroll, and J. Bender. Pathological and immunohistochemical findings in American crows (*Corvus brachyrhynchos*) naturally infected with West Nile virus. *J. Vet. Diagn. Investig.* – 2004.16.

496. Wylie C. S. A biophysical protein folding model accounts for most mutational fitness effects in viruses / C. S. Wylie, E.I. Shakhnovich // *PNAS*. – 2011. – Vol. 108 (24). – P. 9916–9921.

497. Yoshii K. A conserved region in the prM protein is a critical determinant in the assembly of flavivirus particles K. Yoshii, M. Igarashi, O. Ichii, K. Yokozawa, K. Ito, H. Kariwa, I. Takashima // *Journal of General Virology*. – 2012. – Vol.93. – P. 27–38.

Научное издание

Якименко Валерий Викторович,
Малькова Марина Георгиевна,
Тюлько Жанна Сергеевна,
Ткачев Сергей Евгеньевич,
Макенов Марат Темирханович,
Василенко Алексей Геннадиевич

**Трансмиссивные вирусные инфекции Западной Сибири
(региональные аспекты эпидемиологии,
экологии возбудителей и вопросы микроэволюции)**

Монография

Дизайн и верстка
ООО «Издательский центр КАН»

Подписано в печать 25.11.2019
Формат 60x90 1/16 Бумага Херох
Оперативный способ печати
Усл. печ. л. 19.5 Тираж 500 экз.
Заказ № 421

ООО «Издательский центр КАН»
644122, г. Омск, ул. Красный Путь, 30
Тел.: (3812)24-70-79; 8-904-585-98-84
E-mail: pc_kan@mail.ru, Вк: vk.com/ic_kan
Лицензия ПЛД № 58-47 от 21.04.97