



Tick-borne borreliosis pathogen identification in *Ixodes* ticks (Acarina, Ixodidae) collected in St. Petersburg and Kaliningrad Baltic regions of Russia // J Med Entomol. 1998. V. 35, № 2. P. 136–42.

8. Bormane A., Zeltina A., Lucenko I., Mavcutko V., Duks A., Pujate E., Ranka R., Baumanis V. Tick-borne encephalitis – pathogen, vectors and epidemiological situation in Latvia 2002–2003 // Acta Universitatis Latvianica. 2004. V. 676. P. 27–37.

9. Jaaskelainen AE, Sironen T, Murueva GB, Subbotina N, Alekseev AN, Castran J, Alitalo I, Vaheri A, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus in ticks in Finland, Russian Karelia and Buryatia // J Gen Virol. 2010. V. 91, № 11. P. 2706–12.

10. Kim C., Yi Y., Yu D., Llee M., Ccho M., Desai A., Shringi S., Klein T., Kim H., Song J., Baek L., Chong S., O'Guinn M., Lee J., Lee I., Park J., Foley J., Chae J. Tick-borne rickettsial pathogens in ticks and small mammals in Korea // Appl Envir Microbiol. 2006. V. 72, № 9. P. 5766–5776.

11. Korenberg E., Kovalevskii Y., Levin M., Shchyogoleva T. The prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes persulcatus* and *I. ricinus* ticks in the zone of their sympatry // Foplia Parasitologica. 2001. V. 48. P. 63–68.

12. Reye A.L., Stegny V., Mishaeva N.P., Velhin S., Hübschen J.M., Ignatyev G., Muller C.P. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus // PLoS One. 2013. V. 8. P. e54476.

ticks (Acarina, Ixodidae) collected in St. Petersburg and Kaliningrad Baltic regions of Russia // J Med Entomol. 1998. V. 35, № 2. P. 136–42.

8. Bormane A., Zeltina A., Lucenko I., Mavcutko V., Duks A., Pujate E., Ranka R., Baumanis V. Tick-borne encephalitis – pathogen, vectors and epidemiological situation in Latvia 2002–2003 // Acta Universitatis Latvianica. 2004. V. 676. P. 27–37.

9. Jaaskelainen A.E., Sironen T., Murueva G.B., Subbotina N., Alekseev A.N., Castran J., Alitalo I., Vaheri A., Vapalahti O. Tick-borne encephalitis virus in ticks in Finland, Russian Karelia and Buryatia // J Gen Virol. 2010. V. 91, № 11. P. 2706–12.

10. Kim C., Yi Y., Yu D., Llee M., Ccho M., Desai A., Shringi S., Klein T., Kim H., Song J., Baek L., Chong S., O'Guinn M., Lee J., Lee I., Park J., Foley J., Chae J. Tick-borne rickettsial pathogens in ticks and small mammals in Korea // Appl Envir Microbiol. 2006. V. 72, № 9. P. 5766–5776.

11. Korenberg E., Kovalevskii Y., Levin M., Shchyogoleva T. The prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes persulcatus* and *I. ricinus* ticks in the zone of their sympatry // Foplia Parasitologica. 2001. V. 48. P. 63–68.

12. Reye A.L., Stegny V., Mishaeva N.P., Velhin S., Hübschen J.M., Ignatyev G., Muller C.P. Prevalence of tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks from different geographical locations in Belarus // PLoS One. 2013. V. 8. P. e54476.

Панферова Юлия Александровна – медицинский советник ООО «Надир», г. Санкт-Петербург; e-mail: ersvart@inbox.ru

Panferova Yulia Aleksandrovna – Medical Adviser at ООО “Nadir”, St. Petersburg; e-mail: ersvart@inbox.ru

УДК 578.52
ГРНТИ 34.25.21

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСА КЕМЕРОВО

М.В. Сафонова¹, В.Г. Дедков^{1,2}, А.П. Гмыль³, Г.Г. Карганова³, А.С. Сперанская¹,
А.Д. Неверов¹, Г.Г. Федонин¹, А.В. Валдохина¹, Е.В. Пимкина¹, М.Л. Маркелов²,
Г.А. Шипулин¹

¹ Центральнй НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Россия, 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а

² ФГБНУ «НИИ Медицины труда»
Россия, г. Москва, Проспект Буденного, 31

³ ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова»
Россия, 142782, г. Москва, поселение Московский поселок Института полиомиелита

© М.В. Сафонова, В.Г. Дедков, А.П. Гмыль, Г.Г. Карганова, А.С. Сперанская, А.Д. Неверов, Г.Г. Федонин, А.В. Валдохина, Е.В. Пимкина, М.Л. Маркелов, Г.А. Шипулин, 2016



В результате исследования расшифрованы полногеномные последовательности 10 штаммов вируса Кемерово, полученных из различных источников на территории Российской Федерации в период с 1962 по 1975 гг. и проведен их филогенетический анализ. Установлено наличие явлений реассортации и внутривидовой рекомбинации, что свидетельствует о высоком уровне генетической изменчивости вируса Кемерово. Результаты авторов хорошо соотносятся с данными, полученными для других представителей рода *Orbivirus*, в том числе для близкородственного вируса Трибеч, и не исключают возможность принадлежности вирусов Кемерово и Трибеч к одному виду. Дополнена информация о генетическом разнообразии вируса Кемерово и его взаимоотношениях с родственными вирусами группы Грейт Айленд. Полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований патогенности вируса Кемерово.

Ключевые слова: вирусы Кемерово, Трибеч, генетическое разнообразие, полногеномные последовательности.

STUDY OF GENETIC DIVERSITY OF KEMEROVO VIRUS

M.V. Safonova¹, V.G. Dedkov^{1,2}, A.P. Gmyl³, G.G. Karganova³,
A.S. Speranskaya¹, A.D. Neverov¹, G.G. Fedonin¹, A.V. Valdohina¹, E.V. Pimkina¹,
M.L. Markelov², G.A. Shipulin¹

¹ Central Experimental and Proving Establishment of Epidemiology of Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Russia, 111123, Moscow, ul. Novogireevskaya, 3a

² Federal State Budgetary Scientific Institution "Occupational Medicine Research Institute" Moscow, Prospekt Budennogo, 31

³ Federal State Budgetary Scientific Institution "Chumakov Heine-Medin Disease and Viral Encephalitis Institute"

Russia, 142782, Moscow, poselenie Moskovskiy poselok Instituta Poliomeleta

The article deals with the study results of genome-wide decipher of Kemerovo virus's 10 strains. These strains were obtained from various sources in the territory of the Russian Federation from 1962 to 1975 and carried their phylogenetic analysis. The reassortment phenomenon and intragenic recombination phenomena of Kemerovo virus were indicated. These results measure up against data, getting from other representatives within *Orbivirus* genus, including other closely related Tribec virus. This information does not rule out the belonging Kemerovo and Tribec viruses to one species. There is adding information on the genetic diversity Kemerovo virus and its ties with related Great Island viruses group. These findings can provide the basis for follow up of Kemerovo virus pathogenicity.

Keywords: Kemerovo viruses, Tribec, the genetic diversity, genome-wide sequences.

Введение. Вирус Кемерово является представителем рода *Orbivirus* семейства *Reoviridae*, насчитывающим 22 классифицированных вида (Belaganahalli M.N. et al 2015). Вирус был открыт в 1962 г. в эпидемическом очаге клещевого энцефалита в Кемеровской области группой вирусологов под руководством М.П. Чумакова и активно изучался в течение нескольких последующих лет. Как все представители своего рода, он является арбовирусом. В качестве переносчиков выступают клещи сем. Ixodidae.

Роль вируса Кемерово в патологии человека до сих пор изучена недостаточно. Ранее была показана его способность вызывать лихорадочные состояния и симптомы менингоэнцефалита при инфицировании человека, на основании чего вирус был отнесен ко II группе

патогенности, а вызываемое им заболевание получило название лихорадка Кемерово (Chumakov M.P. et al. 1963; Libikova N. et al. 1970). Однако в настоящее время случаи заболевания людей лихорадкой Кемерово не фиксируются и ее вклад в структуру инфекций, передающихся клещами (ИПК), не выяснен.

Современные данные о циркуляции вируса Кемерово на территории Российской Федерации демонстрируют его широкую распространенность не только на территории Сибири, как считалось ранее, но и на Урале и в европейской части России (Dedkov V.G. et al. 2014). География распространенности вируса Кемерово продолжает расширяться за счет вовлечения в исследование регионов Российской Федерации, ранее не охарактеризованных по зараженности переносчиков данным вирусом.



Ввиду малого количества расшифрованных полногеномных последовательностей вируса Кемерово невозможно судить о его внутривидовом генетическом разнообразии. В настоящее время в открытом доступе представлены полногеномные последовательности только двух штаммов вируса Кемерово (GenBank HQ266591-HQ266600 (Dilcher M. et al. 2012), KC288130-KC288139), а также несколько фрагментов генома.

Недостаточность информации о генетическом разнообразии вируса Кемерово не позволяет точно определить его взаимоотношения с родственными вирусами группы Грейт-Айленд, одним из представителей которой он является. В первую очередь, с вирусом Трибеч, циркулирующим на территории Восточной Европы и на юге Украины (Libikova N. et al. 1964; Gresicova M. et al. 1964; Dedkov V.G. et al. 2014 II). Установлено, что вирусы Кемерово и Трибеч могут иметь одного переносчика – клеща *Ixodes ricinus* (Dedkov V.G. et al. 2014 I), – однако вопрос об их межвидовой дифференцировке все еще остается открытым. Поэтому **целью нашей работы** стала расшифровка геномов набора штаммов вируса Кемерово и изучение их генетического разнообразия на примере двух сегментов генома.

Материалы и методы. В ходе работы секвенированы геномы 10 штаммов вируса Кемерово из коллекции ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова» (табл. 1), полученных из различных источников в разное время на территории Алтайского края, Кемеровской и Вологодской областей.

РНК экстрагировали из культуральной жидкости инфицированных клеток почки эмбриона свиньи SPEV и почки хомяка ВНК-21. Очищенную вирусную дцРНК получали преципитацией в градиенте хлорида лития.

К очищенной дцРНК посредством T4 РНК лигазы (Fermentas, Латвия) лигировали адаптеры, которые служили затравкой для реакции обратной транскрипции. Полученную кДНК амплифицировали с помощью праймера, комплементарного последовательности адаптера (Maan S. et al. 2007).

Пробоподготовку для последующего высокопроизводительного секвенирования осуществляли с помощью набора реагентов Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina, Inc., США), качество полученных

библиотек оценивали с использованием 2100 Electrophoresis Bioanalyser (Agilent Technologies, Inc., USA). Высокопроизводительное секвенирование производилось на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США). Полученные данные картировали на геном штамма вируса Кемерово 21/10 (GenBank KC288130-KC288139).

Собранные последовательности геномов десяти штаммов вируса Кемерово сравнивали с представленными в базе данных GenBank последовательностями представителей группы Грейт-Айленд (табл. 2): штаммом вируса Кемерово 21/10 (GenBank KC288132), тремя штаммами вируса Трибеч (GenBank HQ266582, KJ010796, KJ010805), штаммом вируса Липовник (GenBank HM543476) с референсным штаммом вируса Кемерово EgAr 6169 (GenBank HQ266592). Выравнивание по двум сегментам генома, кодирующим последовательности белков VP3 (T2) и VP6 (хеликаза), осуществляли с помощью программного обеспечения (ПО) MEGA версии 5.2, с помощью этого же ПО производили филогенетический анализ. Филогенетические деревья строили методом присоединения соседей с использованием модели замен Джукса-Кантора. Проверку на вероятные рекомбинации осуществляли с помощью ПО SimPlot версии 3.5 методом BootScan. Достоверность рекомбинационных событий подтверждали филогенетическим анализом между различными частями сегмента методом присоединения соседей с использованием модели расстояний Кимуры.

Результаты. Секвенированы и аннотированы полногеномные последовательности 10 штаммов вируса Кемерово. По результатам сравнения идентичности нуклеотидных последовательностей белка VP3 изучаемых штаммов и близкородственных представителей группы Грейт-Айленд, все штаммы вируса Кемерово, включая штамм 21/10, показали от 95,7 до 99,3 % сходства с референсным штаммом EgAr 6169, тогда как штаммы вирусов Трибеч и Липовник показали от до 75,1 до 76,5 % идентичности.

При проведении филогенетического анализа обнаружена межсегментная реассортация штаммов вируса Кемерово. Реассортации между вирусами Кемерово и Трибеч по двум рассматриваемым сегментам не детектировано. Выявлено одно рекомбинационное событие в гене VP3 штамма вируса Кемерово



101, положение потенциального сайта рекомбинации 547-847 п.о. Родительским штаммом, от которого происходит данный сайт, является штамм 5/1.

Обсуждение. В соответствии с положениями IX Доклада Международного комитета по таксономии вирусов (King et al, 2012 г.) одним из критериев принадлежности представителей р. Orbivirus к одному виду является идентичность нуклеотидной последовательности сегмента, кодирующего ген субкорового белка T2 (VP3): более 76 % идентичности – для представителей одного вида, менее 74 % – для представителей разных видов. Хотя последовательности VP3 вирусов Трибеч и Липовник формально укладываются в критерии принадлежности к одному виду с вирусом Кемерово, в диапазон идентичности, ограниченный штаммами вируса Кемерово, не входят. Таким образом, нельзя исключать, что вирусы Кемерово и Трибеч являются представителями одного вида, но для более детального представления о видовой принадлежности необходимо также

изучить возможность симпатрической циркуляции данных родственных вирусов и возможность сегментной реассортации между ними.

В ходе филогенетической реконструкции по двум сегментам генома выявлены достоверные различия в группировании штаммов вируса Кемерово. Изменение топологии филогенетических деревьев, построенных по разным сегментам генома, свидетельствует о наличии у вируса Кемерово явления сегментной реассортации, которая ранее была показана для вируса Трибеч (Dedkov V.G. et al. 2014 II).

Штамм вируса Кемерово 101, в котором обнаружено рекомбинационное событие, получен в Кемеровской области в 1970 г. Родительский штамм 5/1 получен в том же регионе в 1969 г., что может свидетельствовать о высокой вероятности возникновения рекомбинации между ними. Проведен филогенетический анализ по потенциальному сайту рекомбинации и участку сегмента, находящемуся за его пределами. Сравнение участков дает разный порядок ветвления, что свидетельствует о достоверности наблюдаемого рекомбинационного события.

Таблица 1

Описание штаммов вируса Кемерово

№	Штамм	Источник изоляции	Регион изоляции	Год изоляции	Культура клеток для наращивания
1	61	<i>Ixodes persulcatus</i>	Алтайский край	1973	SPEV
2	37	<i>Ixodes persulcatus</i>	Алтайский край	1973	SPEV
3	101	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кемеровская область	1970	SPEV
4	R10	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кемеровская область	1962	SPEV
5	5/1	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кемеровская область	1969	SPEV
6	L75	Человек	Кемеровская область	1962	SPEV
7	205	<i>Ixodes persulcatus</i>	Вологодская область	1974	SPEV
8	483	<i>Ixodes ricinus</i>	Вологодская область	1975	SPEV
9	106	<i>Ixodes persulcatus</i>	Алтайский край	1973	ВНК-21
10	K10	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кемеровская область	1966	ВНК-21

Таблица 2

Номера доступа VP3 и VP6 представителей группы Грейт-Айленд в базе данных GenBank

Вид/штамм	VP3 (T2) № в GenBank	VP6 (хеликаза) № в GenBank
KEMV_21/10	KC288131	KC288138
KEMV_EgAr 6169	HQ266592	HQ266599
TRBV_Tr19	KJ010796	KJ010790
TRBV_Tr35	KJ010805	KJ010799
TRBV_ref	HQ266582	HQ266589
LIPV_CzArLip91	HM543476	-
GIV	NC_014523	NC_014530



Таким образом, по результатам работы существенно дополнена информация о генетическом разнообразии вируса Кемерово и его взаимоотношениях с родственными вирусами группы Грейт Айленд. Полученные данные могут служить основой для дальнейших ис-

следований патогенности вируса Кемерово, его эпидемиологических характеристик и вклада в заболеваемость населения ИПК, что имеет важное значение в контексте возрастающего интереса к изучению новых и возвращающихся инфекций.

УДК 578.426
ГРНТИ 34.25.39

АЛМАТИНСКАЯ ОБЛАСТЬ – РЕГИОН С НОВЫМИ ПАТОГЕННЫМИ РИККЕТСИЯМИ В КАЗАХСТАНЕ

Н.А. Туребеков¹, Ж.Ж. Шапиева², Р.А. Егембердиева³, А.М. Дмитровский³, Л.Т. Ералиева⁴, К.С. Абдиева¹, А. Орадова⁴, А. Амирбеков⁴, З.Качиева⁴, Л. Зиядина², Д. Хёпер⁵, А. Жалмагамбетова⁶, Г. Фрёшл^{1,7}, Й. Циннер⁸, Ш. Фрай⁸, С. Эссбауер^{1,8}

¹Центр международного здравоохранения, Университет им. Людвига-Максимилиана, Мюнхен, Германия

²Отдел паразитологии, Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга, Алматы, Казахстан

³Кафедра инфекционных болезней, Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

⁴Научно-исследовательский институт прикладной и фундаментальной медицины имени Б. Атчабарова, Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова

⁵Институт им. Фридриха Лёфлера, Грайфсвальд, остров Римс, Германия

⁶Германское общество по международному сотрудничеству, Алматы, Казахстан

⁷Кафедра инфекционных болезней и тропической медицины, Клиника Университета им. Людвига-Максимилиана Мюнхен, Германия

⁸Институт микробиологии Бундесвера, Мюнхен, Германия

Приводятся данные о циркулирующих видах риккетсий и минимальный процент инфицированности (МПИ) клещей в двух эндемичных по клещевому риккетсиозу областях Казахстана – Алматинской и Кызылординской областях. Всего был исследован 2341 клещ. В результате исследования обнаружены пять видов риккетсий, два из которых являются уже известными видами риккетсий (*Rickettsia raoultii* и *Rickettsia slovaca*) и три новых вида риккетсий (*Candidatus R. talgari*, *Candidatus R. tekeli* и *Candidatus R. yembekshikazakhi*). Полученные результаты свидетельствуют в первую очередь о широком разнообразии патогенных риккетсий в Казахстане, что имеет важное клиническое значение особенно для диагностики пациентов с клещевым риккетсиозом.

Ключевые слова: инфицированность, клещевой риккетсиоз, Казахстан, распространенность.

© Н.А. Туребеков, Ж.Ж. Шапиева, Р.А. Егембердиева, А.М. Дмитровский, Л.Т. Ералиева, К.С. Абдиева, А. Орадова, А. Амирбеков, З.Качиева, Л. Зиядина, Д. Хёпер, А. Жалмагамбетова, Г. Фрёшл, Й. Циннер, Ш. Фрай, С. Эссбауер, 2016