

© Леонова Г.Н., Беликов С.И., Кондратов И.Г., 2021

УДК 616.9-022:595.421

Новые патогенные вирусы природных очагов Приморья, выделенные за 80-летнюю историю института (обзор вирусологических исследований)

Г.Н. Леонова¹, С.И. Беликов², И.Г. Кондратов²

¹ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, ул. Сельская, д. 1, г. Владивосток, 690087, Российская Федерация

²ФГБНУ Лимнологический институт РАН, ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация

Резюме: Введение. Открытие на Дальнем Востоке в 1937 г. нового вирусного заболевания – клещевого энцефалита (КЭ) – явилось началом таких исследований на Евразийском континенте. Цель исследования – провести вирусологический и эпидемиологический мониторинг клещевых вирусных инфекций в Приморском крае за 80-летний период. Материалы и методы. Выделено несколько сотен штаммов, принадлежащих к вирусам комплекса КЭ (семейство *Flaviviridae*) и к другим семействам, изучены их биологические, антигенные и молекулярно-генетические характеристики. Результаты. Наиболее полное представление о дальневосточной популяции вируса КЭ получено нами за последние десять лет. Оно основано на полногеномном секвенировании 50 штаммов, изолированных от пациентов с разными клиническими проявлениями инфекции, а также из иксодовых клещей. Установлено, что все штаммы принадлежат к одному дальневосточному субтипу вируса КЭ с тремя кластерами (*Oshima*-, *Soffin*-, *Senzhang*-). Впервые на Евразийском континенте в 1972 году был выделен вирус *Повассан* из клещей *Haemaphysalis longicornis*. Филогенетический анализ на основе полногеномной характеристики штаммов *Spassk-9*, *Nadezdinsk-1991* и *Partizansk-2006*, а также характеристики 5 фрагментов других штаммов вируса *Повассан* свидетельствовал о том, что все они относятся к генотипу I вируса *Повассан*. Впервые дано сравнительное описание трех штаммов *Primorye-155-77*, *Primorye-20-79* и *Primorye-185-91* вируса *Louping ill*. Комплексное изучение выделенного штамма *Ozernoe* при летальном исходе пациентки позволило впервые идентифицировать клинический случай лиссавирусной инфекции на азиатской территории России. Этот штамм генетически близок и имеет единого предка со штаммом *Irkut* и отнесен к возбудителям рода *Lyssavirus*, семейство *Rhabdoviridae*. Заключение. Выделение высокопатогенного лиссавируса, нескольких вирусов комплекса КЭ свидетельствует о том, что такой вирусологический надзор актуален и его следует продолжать.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, вирус *Повассан*, вирус *Louping ill*, лиссавирус, Приморский край. Для цитирования: Леонова Г.Н., Беликов С.И., Кондратов И.Г. Новые патогенные вирусы природных очагов Приморья, выделенные за 80-летнюю историю института (обзор вирусологических исследований) // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 5 (338). С. 26–32. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-26-32>

Информация об авторах:

✉ Леонова Галина Николаевна – д-р мед. наук, проф., глав. науч. сотр. лаборатории природно-очаговых трансмиссивных инфекций ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; e-mail: galinaleon41@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0001-6387-1127>.

Беликов Сергей Иванович – д-р биол. наук, проф., глав. науч. сотр. Лимнологического института СО РАН; e-mail: sergeibelikov47@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0001-7206-8299>.

Кондратов Илья Геннадьевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. Лимнологического института СО РАН; e-mail: igkondratov@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2631-4724>.

New Pathogenic Viruses of Natural Foci in Primorye Isolated over the 80-Year History of the Institute: A Review of Virological Studies

G.N. Leonova,¹ S.I. Belikov,² I.G. Kondratov²

¹Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 1 Selskaya Street, Vladivostok 690087, Russian Federation

²Limnological Institute, 3 Ulan-Batorskaya Street, PO Box 278, Irkutsk, 664033, Russian Federation

Summary. Background: The discovery of a new viral disease called tick-borne encephalitis (TBE) in the Far East in 1937 triggered the thematic virology research on the Eurasian continent. The purpose of our study was to conduct a virological and epidemiological monitoring of tick-borne viral infections in the Primorsky Krai over an 80-year period. Materials and methods: Several hundreds of strains belonging to the viruses of the TBE complex (*Flaviviridae* family) and other families have been isolated; their biological, antigenic and molecular genetic characteristics have been studied. Results: The most complete picture of the Far Eastern population of the TBE virus was obtained in the 1990s based on whole genome sequencing of 50 TBEV strains isolated from patients with different clinical manifestations of the disease and from ixodid ticks. It was established that all the strains belong to the same Far Eastern subtype of TBEV with three clusters (*Oshima*-, *Soffin*-, and *Senzhang*-). In 1972, the Powassan virus was first isolated from *Haemaphysalis longicornis* ticks on the Eurasian continent. Phylogenetic analysis based on the whole genome characteristics of the *Spassk-9*, *Nadezdinsk-1991* and *Partizansk-2006* strains, as well as the characteristics of five fragments of other Powassan virus strains, indicated that they all belong to the Powassan virus lineage I. The first comparative description of three strains *Primorye-155-77*, *Primorye-20-79* and *Primorye-185-91* of the *Louping ill* virus was given. A comprehensive study of the isolated *Ozernoe* strain of a deceased female patient enabled identification of the first clinical case of the lyssavirus disease in the Asian part of Russia. This strain is genetically close and has a common ancestor with the Irkut strain and is attributed to pathogens of the genus *Lyssavirus*, family *Rhabdoviridae*. Conclusion: Isolation of a highly pathogenic lyssavirus and several viruses of the TBE complex indicates the importance of such virology surveillance and proves the necessity of its continuation.

Keywords: tick-borne encephalitis virus, Powassan virus, Louping ill virus, Lyssavirus, Primorsky Krai.

For citation: Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG. New pathogenic viruses of natural foci of Primorye isolated over the 80-year history of the Institute: A review of virological studies. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2021; (5(338)):26–32. (In Russian). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-26-32>

Author information:

✉ Galina N. Leonova, D.M.Sc., Professor, Chief Researcher, Laboratory of Natural Focal Transmissible Infections, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; e-mail: galinaleon41@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6387-1127>.

Sergei I. Belikov, D.Biol.Sc., Chief Researcher, Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: ; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7206-8299>.

Ilya G. Kondratov, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: ; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>.

Введение. Участники экспедиции Наркомздрава СССР и Академии наук во главе с вирусологом Л.А. Зильбером в 1937 г. открыли на Дальнем Востоке не только новую болезнь (весенне-летний клещевой энцефалит), но и положили начало развитию в стране новой отрасли медицинской науки — вирусологии [1]. Выделение вируса и описание клинико-эпидемических проявлений болезни человека быстро сформировало представление о важности этой проблемы, которую в 1950-х годах стали активно решать сотрудники вновь организованного в 1941 году НИИ эпидемиологии и микробиологии Министерства здравоохранения РСФСР.

Организация по государственному заданию МЗ СССР в 1969 году лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций предусматривала проведение в природных очагах инфекций широкого поиска возбудителей, имеющих значение в патологии человека.

Цель исследований — провести вирусологический и эпидемиологический мониторинг клещевых вирусных инфекций в Приморском крае за 80-летний период.

Материалы и методы. Выделено несколько сотен штаммов, принадлежащих к вирусам комплекса КЭ (семейство *Flaviviridae*) и к другим семействам, изучены их биологические, антигенные и молекулярно-генетические характеристики.

Результаты. В 1970 г. из клещей *Ixodes persulcatus*, снятых с дикого кабана в Красноармейском районе, был выделен первый вирус который получил название *Сухомэ-Алинь* и проявил сходство с представителями пикорнавирусов^{1,2} [2]. В 1971 г. на территории Хасанского района Приморского края из клещей *Haemaphysalis longicornis* был изолирован вирус *Хасан*, имевший антигенное родство с неклассифицированными представителями семейства буньявирусов^{1,2} [2]. На основе молекулярно-генетических исследований было установлено, что вирус *Хасан*, являясь представителем вирусов группы *Кайсоди*, отнесен к роду *Phlebovirus*, семейство *Bunyaviridae* [3].

В дальнейших исследованиях наше внимание было нацелено на изоляцию и изучение возбудителей, играющих роль в региональной патологии человека.

Вирус клещевого энцефалита (дальневосточный субтип). Еще в 1937 г. Л.А. Зильбер [1] понимал, что главным доказательством верификации случаев неизвестного заболевания является выделение возбудителя. На основании данных об особенностях антигенной характеристики вирус КЭ (ВКЭ) был определен как основной представитель серологической группы вирусов комплекса КЭ, куда вошли 12 антигенно похожих вирусов [4]. А в 1990 г. А.Г. Плетнев с соавторами первыми описали полногеномную последовательность прототипного штамма *Софьин ВКЭ* [5].

Нами было показано, что комплексное изучение биологической характеристики с расшифровкой полногеномной нуклеотидной

последовательности 50 штаммов ВКЭ, вызвавших инаппарантную, лихорадочную и очаговые формы инфекции у пациентов, способно выявить особенности их вирулентных свойств [6].

Установлено, что независимо от тяжести заболевания все штаммы принадлежат к I дальневосточному субтипу ВКЭ [7]. При этом большая часть штаммов, вызывающих инаппарантное течение инфекции, формирует отдельный I кластер вместе со штаммом *Oshima 5-10* (Япония). Два других кластера с прототипными штаммами — дальневосточным *Soffin* (кластер II) и северокайским — *Senzhang* (кластер III) — сформированы в основном представителями штаммов, вызывающих манифестные формы КЭ. Некоторые другие штаммы, вызывающие лихорадочную форму заболевания, находятся в кластере I или в кластере II.

Полученные комплексные данные исследования значительного числа штаммов ВКЭ, охарактеризованных и зарегистрированных в GenBank, явились основой для проведения многими исследователями сравнительного анализа различий многочисленных штаммов ВКЭ, выделенных на всей эндемичной территории Евразийского континента [8–11].

Сравнительное изучение биологической и молекулярно-генетической характеристик 10 штаммов ВКЭ, изолированных до 1960 г. и находившихся длительное время (более 65 лет) в лиофилизированном состоянии, показало, что все они принадлежат также к дальневосточному субтипу ВКЭ [12]. В кластер *Софьин*-подобных штаммов вошли представители, вызвавшие не только манифестные формы КЭ, но и штаммы, изолированные из клещей. В кластер *Oshima*-подобных штаммов вошли представители с разной биологической характеристикой. Штамм *Oshima 5-10* и ему подобные штаммы были изолированы в Японии из различных сочленов (собаки, клещи, грызуны) природного очага на о. Хоккайдо [13–16], где в 1993 г. был зарегистрирован случай менингоэнцефалита КЭ, закончившийся выздоровлением. Штаммы *Oshima* были охарактеризованы японскими исследователями [17–18] как типичные представители дальневосточного субтипа ВКЭ. Однако в 2016–2017 гг. были зарегистрированы еще 3 новых случая КЭ, два из которых закончились летальным исходом [19], что свидетельствовало о повышении активности действующего природного очага КЭ на северных территориях Японии — острове Хоккайдо. Эти данные помогают понять, почему в кластер *Oshima*-подобных штаммов, состоящих в основном из непатогенных для человека штаммов, вошли некоторые представители, выделенные на Дальнем Востоке от больных с манифестными формами инфекции.

Получены данные, свидетельствующие, что штамм *Primorye-512*, изолированный из мозга лесной мыши *A. peninsulae*, на филогенетическом древе расположился рядом со штаммом *Senzhang*. Этот штамм был изолирован в 1953 г. из мозга умершего пациента в Китае [20].

¹ Леонова Г.Н. Вирусы, выделенные из клещей в Приморском крае. Автореф. дис. ... канд. мед. наук, М., 1976.

² Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: академик РАН Д.К. Львов. М.: МИА, 2013. 1200 с.

Результаты последних лет убедили нас в том, что северокайтайские штаммы объединяются в самостоятельный кластер ВКЭ дальневосточного субтипа [20]. Сюда же вошли и некоторые выделенные и изученные нами региональные штаммы ВКЭ [7, 21].

Полученные результаты изучения популяции ВКЭ за 80-летний период указывают на то, что эволюция вируса совершилась в более ранний период с разделением дальневосточной популяции вируса на кластеры *Soffin*-, *Oshima*- и *Senzhang*-подобные штаммов, у которых произошли изменения молекулярно-генетической структуры, характеризующие их различия. Существование штаммов, принадлежащих к разным кластерам дальневосточной популяции ВКЭ, ранее не учитывалось при верификации случаев КЭ, что приводило к гиподиагностике и завышению показателей летальности на Дальнем Востоке [22].

История КЭ связана с изучением штамма *Софьин*, впервые выделенного из мозга умершего от КЭ больного в Приморском крае [1]. Штамм ВКЭ с этим названием имеется почти во всех вирусологических лабораториях России и за рубежом. К настоящему времени появилось много публикаций, претендующих на истинность характеристики штамма *Софьин*, используемого в разных вирусологических лабораториях [5, 13, 18, 23]. В наших исследованиях штамм *Софьин*, переданный Е.Н. Левкович в 1953 г. в ВНИИЭМ (Владивосток) и условно названный нами *Софьин-1953*, показал высокий патогенный потенциал, несмотря на лиофилизацию и длительный период хранения, что можно связать с проведенными до 1953 г. многочисленными пассажами штаммов, приведшими к ликвидации минорных вариантов. Так, только в 1938 г. для стабильной характеристики штамма *Софьин* Е.Н. Левкович провела около 50 пассажей на белых мышах [24]. Несмотря на лиофилизацию и длительность хранения, степень нейровирулентности и нейроиновзависности штамма *Софьин-1953* не изменилась, что представляется нам важным свойством в характеристике возбудителя [12]. Еще более убедительные результаты получены при полногеномном секвенировании штамма *Soffin-1953*, который по молекулярно-генетической характеристике оказался близким штаммам *Soffin-Chumakov* и *Soffin-KSY*. Другие представители *Софьин*-подобных штаммов (*Soffin-HO*, *Soffin-PYB* и *Soffin(Vector)*) отличались по молекулярно-генетической структуре от своего прародителя штамма *Софьин*. Они заняли другие позиции на филогенетическом древе, что не позволило отнести их к группе штаммов, прототипных штамму *Софьин*. Более того, согласно последовательности белка Е, штамм *Soffin-HO* оказался идентичным штамму *Khabarovsk-Obor-4*, впервые выделенному в 1937 г. сотрудниками северного отряда в Хабаровском крае [24].

На основании полученных результатов показано, что близкие по молекулярно-генетической структуре штаммы *Soffin-1953*, *Soffin-Chumakov* и *Soffin-KSY* и, вероятно, *Soffin-CDC* явились типичными прототипными представителями ВКЭ дальневосточного субтипа, которые могут

быть использованы как референсные штаммы не только для сравнительного изучения популяции ВКЭ, но и для получения надежных вакцинных препаратов против КЭ.

Вирус Повассан. Вирус *Повассан* (POWV), принадлежащий к семейству *Flaviviridae* (*Flavivirus*), впервые был выделен из мозга ребенка, погибшего от энцефалита в 1958 г. в г. Повассан (Канада) [25]. В период 1960–1970 гг. вирус POWV неоднократно был изолирован из клещей и крови мелких млекопитающих в различных канадских провинциях.

К числу вирусных клещевых инфекций Северной Америки следует причислить также изоляцию вируса оленей клеща *Deer tick virus* (DTV) из клещей *Ixodes dammini* [26]. Было показано, что вирусы POWV и DTV разделяются на две родословные линии с прототипами – POWV и DTV [27, 28]. Различия в нуклеотидной последовательности белка оболочки между двумя прототипами POWV могут достигать 15 %, в то время как последовательности аминокислот более консервативны [28]. На основании серологической, аминокислотной идентификации, а также нейроиновзависности на мышах D. Beasley and coauthors [29] предположили, что DTV может классифицироваться как генотип вируса POWV.

На Евразийском континенте POWV впервые был выделен нами в 1972 г. из клещей *Haemaphysalis longicornis*, собранных с растительности на территории Хасанского района Приморского края [30, 31]. Мы провели широкие исследования по выделению POWV в первую очередь из иксодовых клещей, обитающих в разных биотопах различных типов растительных поясов Приморского края. Источниками изоляции этого вируса были в основном дополнительные переносчики ВКЭ с низким лоймопотенциалом для POWV, такие как *D. silvarum* (0,9 %), *H. concinna* (0,2 %), *H. japonica* (0,4 %), *H. longicornis* (0,08 %), а также в единичном случае – *I. persulcatus*.

Судя по редкости выделения штаммов POWV, можно было сделать предположение о низкой степени активности эпидемического потенциала этой инфекции в природных очагах. Случаи их изоляции, как правило, приходились на годы повышенной активности ВКЭ, обусловившей подъемы заболеваемости КЭ в Приморском крае (1972, 1975, 1978–1979, 1986 годы). Всего нами было изолировано 8 штаммов POWV, в том числе 4 штамма от человека. В 1978 году из сгустка крови, взятой у больной на 2-е сутки после присасывания клеща на о. Русском, был изолирован штамм *Primorye-555* [31]. В мае 1979 года из мозга умершего пациента с тяжелой формой менингоэнцефалита, который многократно подвергался присасываниям клещей в Дальнереченском районе, изолирован штамм *Lubitovka-1979*. Новый штамм *Partizansk-2006* был выделен в 2006 г. из образца крови человека с присасыванием клеща.

Полногеномная нуклеотидная последовательность была определена для штаммов POWV *Spassk-9*, *Nadezdinsk-1991* и *Partizansk-2006*, а также 5 фрагментов геномов других штаммов, изолированных в период 1972–1979 гг. на территории Приморского края [32]. Идентичность

последовательностей нуклеотида между канадскими и российскими штаммами POWV была высокой (99,8 %). Филогенетический анализ на основе полногеномной характеристики штаммов *Spassk-9*, *Nadezdinsk-1991* и *Partizansk-2006*, а также характеристики 5 фрагментов других штаммов POWV свидетельствовали о том, что все они относятся к генотипу I POWV.

По поводу причин обнаруженных нами случаев необычной передачи штаммов POWV генотипа I между дальневосточным регионом России и дальневосточным регионом Канады были высказаны следующие гипотетические предположения: а) перемещение различных видов птиц в природе; б) массивная транспортировка военных грузов и войск в течение мировых войн; в) доставка в дальневосточные регионы России таких животных, как ондатра и американская норка, с Американского континента после Второй мировой войны; г) обычная перевозка груза морским транспортом. Описанная сходная для человека патогенность российских и американских штаммов POWV [25, 31, 33] указывает на то, что POWV имеет теперь местное значение для Дальнего Востока России.

Таким образом, впервые на Евразийском континенте нами обнаружены очаги ранее неизвестной здесь вирусной инфекции. Дано теоретическое обоснование низкого лоймопотенциала POWV в природных очагах Приморского края. Однако, обладая различной степенью вирулентности, POWV способен вызывать как бессимптомные формы, так и тяжелые поражения головного мозга с летальным исходом. С учетом комплексной характеристики патогенных свойств штамма П-40 POWV для обезьян можно сделать утверждение о высоком нейротропизме этого вируса, вызывающего развитие менингоэнцефаломиелита, и энцефалитогенной потенции этого вируса для человека и о его значении в инфекционной патологии человека³.

Вирус Шотландского энцефаломиелита овец (*Louping ill*). В середине XX века внимание исследователей привлек другой представитель комплекса клещевого энцефалита — вирус *Negishi*, выделенный в 1948 году в Токио от больного с симптомами, похожими на японский энцефалит [34], и определенный как самостоятельный представитель группы вирусов комплекса клещевого энцефалита [4]. В то же время этот вирус продемонстрировал здесь близкую одностороннюю антигенную связь с *Louping ill* (LIV). И только сравнительное молекулярно-генетическое изучение вируса *Negishi* и вируса LIV позволило установить филогенетическую близость этих представителей комплекса клещевого энцефалита [35].

Нами впервые дано сравнительное описание трех штаммов *Primorye-155-77*, *Primorye-20-79* и *Primorye-185-91* вируса *Louping ill* [36], выделенных на территории Приморского края России. Клещи, зараженные штаммами *Primorye-155-77* и *Primorye-20-79*, были обнаружены в Спасском районе (низменная равнинная территория,

примыкающая к западному склону Сихотэ-Алиньских гор), а штаммом *Primorye-185-91* — в пригородной лесной зоне Владивостока.

По биологическим свойствам эти штаммы были сходны между собой, т. к. обладали низкой степенью нейроинвазивности для белых мышей. По данным Л.М. Сомовой с соавторами³, особый тип поражения нейронов у зараженных вирусом обезьян свидетельствует о своеобразном взаимодействии вируса и клетки, о выраженных нейротропных свойствах вируса Шотландского энцефаломиелита овец (ШЭО).

Молекулярно-генетическое сравнение 5'фрагментов геномов описанных трех штаммов (*Primorye-20-79*, *Primorye-155-77* и *Primorye-185-91*) также показало, что они близки, обнаруженные замены не существенны и штаммы имеют одного предка со штаммом *Negishi*. В литературе известно описание полных геномов только двух штаммов LIV (369/T2 LIV и *Penrith*). Геном штамма *Penrith* длиной 10,875 нуклеотидов имел 95,6%-ю идентичность с геномом штамма 369/T2, несмотря на разное время изоляции, разных хозяев и разную пассажную историю. Полный геном штамма *Primorye-185-91* был сравнен с двумя ранее опубликованными полными геномами LIV. Гомология штамма *Primorye-185-91* со штаммом LIV 369/T2 составила 97,57 %, а со штаммом *Penrith* она была выше — 98,36 %.

Разница во времени выделения этих двух штаммов (369/T2; *Penrith*) LIV и штамма *Negishi* составляет 46 лет и 43 года соответственно, что позволяет оценить изменчивость этого возбудителя, циркулирующего в различных экологических условиях, через почти равные промежутки после обнаружения их предковых форм. Случаи изоляции вируса *Negishi* в Японии, а также выявление очага циркуляции LIV на территории Приморья, вероятно, можно отнести к одному периоду (до 1950 года). В это время происходила активная миграция репатрированных солдат, которые, предположительно, могли быть инфицированы вирусом *Negishi* на территории Маньчжурии (сопредельная территория России и Китая) [37]. Скорости эволюции штаммов LIV на Британских островах и на территории Дальнего Востока существенно не различаются.

После единственного случая изоляции вируса *Negishi* от больного человека японские исследователи неоднократно и безуспешно пытались доказать циркуляцию этого вируса в природных очагах на территории островов Японии. Но такие поиски привели к открытию на территории о. Хоккайдо не вируса *Negishi*, а другого родственного вируса клещевого энцефалита [14–16]. Предполагая, что занос вируса *Повассан* мог произойти завезенными сельскохозяйственными животными в годы Первой и Второй мировых войн [32], мы не исключили такую же возможность заноса LIV как в Японию, так и на территорию Приморского края. *Negishi*-подобные штаммы представлены одним субтипом вируса *Louping ill* — *British subtype* (LIV-Brit), что указывает

³ Сомова Л.М., Фролова М.П., Погодина В.В., Леонова Г.Н. Патология нейроинфекций, вызываемых вирусами комплекса клещевого энцефалита / Под редакцией А.А.Ишмухаметова. Москва Синтерия 2018. doi: 10.26100/P9NM-5H50.

на занос вируса в дальневосточный регион из единого природного очага.

Лиссавирус. Лиссавирусы являются представителями рода *Lissavirus*, принадлежащего к семейству *Rhabdoviridae*. Род *Lissavirus* включает 7 генотипов. К 1-му генотипу относят вирус классического бешенства (*Rabies*), широко распространенный на всех континентах земного шара. В Центральной и Южной Африке циркулируют вирусы 2-го генотипа (*Lagos bat virus*), выделенные от плотоядных летучих мышей, собак и кошек. Патогенность этих вирусов для человека пока неизвестна. Здесь же от землероек, человека, собак и кошек выделен *Mokola virus* — представитель 3-го генотипа. В Южной Африке и Зимбабве от человека, укушенного летучей мышью, а также от летучих мышей выделен *Duvenhage virus* — представитель 4-го генотипа. В странах Европы и в европейской части России циркулируют лиссавирусы европейских летучих мышей 1-го и 2-го субтипов (EBLV-1 и EBLV-2), относящиеся к 5-му и 6-му генотипам, которые изолированы от летучих мышей и от людей, укушенных ими. Лиссавирус австралийских летучих мышей (*ABLV*), относящийся к 7-му генотипу, также был изолирован от людей. Недавно были открыты 4 новых лиссавируса (*Араван*, *Худжанд*, *Иркут* и западно-кавказский вирус летучих мышей), которые изолированы только от летучих мышей и были идентифицированы как лиссавирус европейских летучих мышей EBLV-2 [38–40].

Известно, что риск заражения людей вирусом летучих мышей невелик — с 1977 года в Европе описано всего 4 летальных случаев. О двух случаях водобоязни людей, вызванных вирусом европейских летучих мышей типа EBLV-2, сообщали в Финляндии и Шотландии [41]. О подтвержденных случаях бешенства после укуса летучей мыши сообщали на Украине и в России [40]. Они были связаны с лиссавирусом европейских летучих мышей типа 1 (EBLV-1). Кроме того, в 2002 году стал известен также случай лиссавирусной инфекции человека в Китае [42].

Проведенное нами комплексное изучение летального случая пациентки позволило впервые выявить клинический случай лиссавирусной инфекции на азиатской территории России в Приморском крае [46]. Больная Ж., 20 лет, постоянно проживала в с. Озёрное Яковлевского района Приморского края, 10.09.2007 заболела остро. В начале августа при случайном нападении летучей мыши произошло оцарапывание нижней губы девушки с появлением капельки крови, рана зажила быстро. 10.09.2007 у больной после резкого переохлаждения повысилась температура тела до 38 °С, появились интенсивная головная боль, неоднократная рвота, диплопия, дрожание головы и рук. Поставлен диагноз: инфекционный (вирусный) менингоэнцефалит неясного генеза, острая стадия, тяжелое течение, глубокий вялый парез, бульбарный синдром. На 11-й день заболевания наступил летальный исход. Из кусочков головного мозга, взятых посмертно при вскрытии трупа, был выделен вирус на модели белых мышей двухсуточного возраста.

Анализ молекулярной структуры штамма *Ozernoe* с другими лиссавирусами показал, что по фрагменту консервативного 3'-конца генома он наиболее близок к штамму *Irkut* вируса бешенства летучих мышей и достигает гомологии с ним до 95 %. Существенно меньшее сходство нуклеотидной последовательности этого фрагмента имеется с EBLV-1 (от 77 до 76 % идентичности) и еще меньшее — с EBLV-2, *Duvenhage virus* и *Rabies virus*. Полноразмерный ген N (в GenBank № FJ905105) гомологичен на 93 % соответствующему гену штамма *Irkut*; существенно меньшая гомология отмечена к другим генотипам лиссавирусов: EBLV-1 — 79 %, *Duvenhage* — 78 %, EBLV-2 — 77 %, *Khujand* — 77 %, *Rabies* — 76 %, *Avaran* — 76 %, *ABLV* — 76 %, *Lagos* — 75 %, *West Caucasian* — 73 % и *Mokola* — 72 %. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов нуклеопротеина показал, что штаммы *Irkut* и *Ozernoe* находятся на одной ветви и имеют единого предка.

Закключение. Выделение нескольких вирусов комплекса КЭ, пикорнавируса, вируса из семейства *Bunyaviridae*, а также высокопатогенного лиссавируса свидетельствует о том, что такой вирусологический надзор актуален и его следует продолжать.

Выводы

1. За 80-летний период научной деятельности лаборатории клещевого энцефалита института к числу достижений следует отнести выделение на территории Приморского края нескольких сотен штаммов, принадлежащих к вирусам комплекса клещевого энцефалита, изучение их биологической, антигенной и молекулярно-генетической характеристик.

2. Наиболее полное представление о дальневосточной популяции ВКЭ получено в последние десять лет на основе полногеномного секвенирования 50 штаммов ВКЭ, изолированных от пациентов с разными клиническими проявлениями инфекции — от очаговых до инapparантных форм, а также исходов клещей. Все штаммы образовали один дальневосточный субтип ВКЭ с тремя кластерами (*Oshima*-, *Soffin*-, *Senzhang*).

3. Дана характеристика впервые выделенных на территории Приморского края 8 штаммов вируса *Повассан*. Филогенетический анализ на основе полногеномной характеристики штаммов *Spassk-9*, *Nadezdinsk-1991* и *Partizansk-2006*, а также характеристики 5 фрагментов других штаммов вируса POW свидетельствовал о том, что все они относятся к генотипу I вируса Повассан.

4. Впервые дано сравнительное описание трех штаммов *Primorye-155-77*, *Primorye-20-79* и *Primorye-185-91* вируса *Louping ill*, выделенных на территории Приморского края России.

5. На основании относительно редких случаев выделения штаммов вирусов *Повассан* и *Louping ill*, можно сделать предположение о низкой степени активности эпидемического потенциала этих возбудителей в природных очагах инфекций Приморского края.

6. Комплексное изучение выделенного штамма *Ozernoe* при летальном исходе пациентки позволило впервые идентифицировать клинический

случай лиссавирусной инфекции на азиатской территории России в Приморском крае, который был отнесен к возбудителем рода *Lissavirus*, семейство *Rhabdoviridae*. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов нуклеопротеина показал, что штаммы *Irkut* и *Ozernoe* генетически близки и имеют единого предка.

Информация о вкладе авторов: Леонова Г.Н. — разработка дизайна исследования, написание текста рукописи; Кондратов И.Г. — получение данных для анализа; Беликов С.И. — анализ полученных данных.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки, никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

(пп. 4–21, 23, 25–29, 32–43 см. References)

1. Зильбер Л.А. Весенний (весенне-летний) эпидемический клещевой энцефалит // Архив биологических наук. 1939. № 32 (56). С. 9–37.
2. Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К. Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов // Вестник РАМН. 2006. № 2. С. 22–24.
3. Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Самохвалов Е.И. и др. Таксономия вируса Хасан (Khasan, KHAV) — нового вируса рода *Phlebovirus* (сем. *Bunyaviridae*), изолированного из клещей *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) в Приморском крае (Россия) // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58. № 5. С. 15–18.
22. Леонова Г.Н. Динамика эпидемической ситуации по клещевому энцефалиту на Дальнем Востоке // Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2015. Т. 14 № 3 (82). С. 17–22.
24. Левкович Е.Н., Шубладзе А.К., Чумаков М.П. и др. Этиология весенне-летнего эпидемического энцефалита // Архив биологических наук. 1938; 52. № 1. С. 164–183.
30. Львов Д.К., Леонова Г.Н., Громашевский В.Л., Беликова Н.П., Березина Л.К. Изоляция вируса Повассан из клещей *Haemaphysalis neumannii* Dönitz, 1905, в Приморском крае // Вопросы вирусологии. 1974. № 5. С. 538–541.
31. Леонова Г.Н., Исачкова Л.М., Баранов Н.И., Кругляк С.П. Изучение роли Повассан в этиологической структуре клещевого энцефалита в Приморском крае // Вопросы вирусологии. 1980. № 2. С. 173–176.
1. Zilber LA. [Spring (spring-summer) endemic tick-borne encephalitis.] *Arkhir Biologicheskikh Nauk*. 1939;(32(56):9–37. (In Russian).
2. Shchelkanov MYu, Gromashevsky VL, Lvov DK. The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2006;(2):22–24. (In Russian).
3. Alkhovsky SV, Lvov DK, Shchelkanov MYu, et al. The taxonomy of the Khasan virus (KHAV), a new representative of *Phlebovirus* genera (*Bunyaviridae*), isolated from the ticks *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) in the Maritime territory (Russia). *Voprosy Virusologii*. 2013;58(5):15–18. (In Russian).
4. Calisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, et al. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J Gen Virol*. 1989;70 (Pt 1):37–43. doi: 10.1099/0022-1317-70-1-37
5. Pletnev AG, Yamshchikov VF, Blinov VM. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 1990;174(1):250–63. doi: 10.1016/0042-6822(90)90073-z
6. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG, Takashima I. Comprehensive assessment of the genetics and virulence of tick-borne encephalitis virus strains isolated from patients with inapparent and clinical forms of the infection in the Russian Far East. *Virology*. 2013;443(1):89–98. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.029
7. Belikov SI, Kondratov IG, Potapova UV, Leonova GN. The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties. *PLoS One*. 2014;9(4):e94946. doi: 10.1371/journal.pone.0094946
8. Bertrand Y, Töpel M, Elväng A, Melik W, Johansson M. First dating of a recombination event in mammalian tick-borne flaviviruses. *PLoS One*. 2012;7(2):e31981. doi: 10.1371/journal.pone.0031981
9. Norberg P, Roth A, Bergström T. Genetic recombination of tick-borne flaviviruses among wild-type strains. *Virology*. 2013;440(2):105–116. doi: 10.1016/j.virol.2013.02.017
10. Bertrand YJK, Johansson M, Norberg P. Revisiting recombination signal in the tick-borne encephalitis virus: A simulation approach. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164435. doi: 10.1371/journal.pone.0164435
11. Vorovitch MF, Kozlovskaya LI, Romanova LIu, Chernokhaeva LL, Ishmukhametov AA, Karganova GG. Genetic description of a tick-borne encephalitis virus strain Sofjin with the longest history as a vaccine strain. *Springerplus*. 2015;4:761. doi: 10.1186/s40064-015-1561-y
12. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG. Characteristics of far eastern strains of tick-borne encephalitis virus. *Arch Virol*. 2017;162(8):2211–2218. doi: 10.1007/s00705-017-3309-1
13. Chiba N, Iwasaki T, Mizutani T, Kariwa H, Kurata T, Takashima I. Pathogenicity of tick-borne encephalitis virus isolated in Hokkaido, Japan in mouse model. *Vaccine*. 1999;17(7-8):779–87. doi: 10.1016/s0264-410x(98)00262-x
14. Takashima I, Morita K, Chiba M, et al. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. *J Clin Microbiol*. 1997;35(8):1943–7. doi: 10.1128/JCM.35.8.1943-1947.1997
15. Takeda T, Ito T, Chiba M, Takahashi K, Niioka T, Takashima I. Isolation of tick-borne encephalitis virus from *Ixodes ovatus* (Acari: Ixodidae) in Japan. *J Med Entomol*. 1998;35(3):227–31. doi: 10.1093/jmedent/35.3.227
16. Takeda T, Ito T, Osada M, Takahashi K, Takashima I. Isolation of tick-borne encephalitis virus from wild rodents and seroepizootologic survey in Hokkaido, Japan. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60(2):287–91. doi: 10.4269/ajtmh.1999.60.287
17. Goto A, Hayasaka D, Yoshii D, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I. Genetic and biological comparison of tick-borne encephalitis viruses from Hokkaido and far-eastern Russia. *Jpn J Vet Res*. 2002;49(4):297–307.
18. Hayasaka D, Suzuki Y, Kariwa H, et al. Phylogenetic and virulence analysis of tick-borne encephalitis viruses from Japan and far-Eastern Russia. *J Gen Virol*. 1999;80(Pt 12):3127–35. doi: 10.1099/0022-1317-80-12-3127
19. Yoshii K, Song JY, Park SB, Yang J, Schmitt HJ. Tick-borne encephalitis in Japan, Republic of Korea and China. *Emerg Microbes Infect*. 2017;6(9):e82. doi: 10.1038/emi.2017.69
20. Zhang Y, Si BY, Liu BH, et al. Complete genomic characterization of two tick-borne encephalitis viruses isolated from China. *Virus Res*. 2012;167(2):310–3. doi: 10.1016/j.virusres.2012.05.015
21. Ternovoi VA, Protopopova EV, Chaurov EV, et al. Novel variant of tick-borne encephalitis virus, Russia. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(10):1574–8. doi: 10.3201/eid1310.070158
22. Leonova GN. The dynamics of the epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the Far East.

- Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2015;14(3(82)):17–22. (In Russian).
23. Kovalev SY, Mukhacheva TA, Kokorev VS, Belyaeva IV. Tick-borne encephalitis virus: reference strain Sofjin and problem of its authenticity. *Virus Genes*. 2012;44(2):217–24. doi: 10.1007/s11262-011-0690-9
 24. Levkovich EN, Shubladze AK, Chumakov MP, Soloviev VD. [Etiology of the spring-summer endemic encephalitis.] *Arkhiv Biologicheskikh Nauk*. 1938;52(1):164–183. (In Russian).
 25. McLean DM, Donohue WL. Powassan virus: isolation of virus from a fatal case of encephalitis. *Can Med Assoc J*. 1959;80(9):708–11.
 26. Telford 3rd SR, Armstrong PM, Katavolos P, et al. A new tick-borne encephalitis-like virus infecting New England deer ticks, *Ixodes dammini*. *Emerg Infect Dis*. 1997;3(2):165–70. doi: 10.3201/eid0302.970209
 27. Kuno G, Artsob H, Karabatsos N, Tsuchiya KR, Chang GJ. Genomic sequencing of deer tick virus and phylogeny of Powassan-related viruses of North America. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;65(5):671–6. doi: 10.4269/ajtmh.2001.65.671
 28. Ebel GD, Spielman A, Telford SR. Phylogeny of North American Powassan virus. *J Gen Virol*. 2001;82(Pt 7):1657–1665. doi: 10.1099/0022-1317-82-7-1657
 29. Beasley DW, Suderman MT, Holbrook MR, Barrett AD. Nucleotide sequencing and serological evidence that the recently recognized deer tick is a genotype of Powassan virus. *Virus Res*. 2001;79(1-2):81–89. doi: 10.1016/s0168-1702(01)00330-6
 30. Lvov DK, Leonova GN, Gromashevskiy VL, Belikova NP, Berezina LK. [Isolation of the Powassan virus from *Haemaphysalis neumannii* Dönitz ticks, 1905, in the Primorsky Krai.] *Voprosy Virusologii*. 1974;19(5):538–41. (In Russian).
 31. Leonova GN, Isachkova LM, Baranov NI, Kruglyak SP. [The study of the role of Powassan in the etiological structure of tick-borne encephalitis in the Primorsky Krai.] *Voprosy Virusologii*. 1980;(2):173–176. (In Russian).
 32. Leonova GN, Kondratov IG, Ternovoi VA, et al. Characterization of Powassan viruses from Far Eastern Russia. *Arch Virol*. 2009;154(5):811–20. doi: 10.1007/s00705-009-0376-y
 33. Gholam BI, Puksa I, Provias JP. Powassan encephalitis: a case report with neuropathology and literature review. *CMAJ*. 1999;161(11):1419–22.
 34. Ando K, Kuratsuka S, Arima S, Hironaka N, Honda Y, Ishii K. Studies on the viruses isolated during epidemic of Japanese B encephalitis in 1948 in Tokyo area. *Kitasato Arch Exp Med*. 1952;24(3-4):429–41.
 35. Venugopal K, Buckley A, Reid HW, Gould EA. Nucleotide sequence of the envelope glycoprotein of Negishi virus shows very close homology to louping ill virus. *Virology*. 1992;190(1):515–21. doi: 10.1016/0042-6822(92)91245-p
 36. Leonova GN, Kondratov IG, Maystrovskaya OS, Takashima I, Belikov SI. Louping ill virus (LIV) in the Far East. *Arch Virol*. 2015;160(3):663–73. doi: 10.1007/s00705-014-2310-1
 37. Ogawa M, Okubo H, Tsuji Y, Yasui N, Someda K. Chronic progressive encephalitis occurring 13 years after Russian spring-summer encephalitis. *J Neurol Sci*. 1973;19(3):363–73. doi: 10.1016/0022-510x(73)90100-7
 38. Botvinkin AD, Selnikova OP, Antonova LA, Moiseeva AB, Nesterenko EY, Gromashevsky LV. Human rabies case caused from a bat bite in Ukraine. *Rab Bull Eur*. 2005;29(3):5–7.
 39. Kuzmin IV, Hughes GJ, Botvinkin AD, Orciari LA, Rupprecht CE. Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the *Lyssavirus* genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for *lyssavirus* genotype definition. *Virus Res*. 2005;111(1):28–43. doi: 10.1016/j.virusres.2005.03.008
 40. Kuzmin IV, Wu X, Tordo N, Rupprecht CE. Complete genomes of Aravan, Khujand, Irkut and West Caucasian bat viruses, with special attention to the polymerase gene and non-coding regions. *Virus Res*. 2008;136(1-2):81–90. doi: 10.1016/j.virusres.2008.04.021
 41. Fooks AR, McElhinney LM, Pounder DJ, et al. Case report: isolation of a European bad *lyssavirus* type 2a from a fatal human case of rabies encephalitis. *J Med Virol*. 2003;71(2):281–9. doi: 10.1002/jmv.10481
 42. Tang X, Luo M, Zhang S, Fooks AR, Hu R, Tu C. Pivotal role of dogs in rabies transmission, China. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(12):1970–2. doi: 10.3201/eid1112.050271
 43. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG, et al. A fatal case of bat *lyssavirus* infection in Primorye Territory of the Russian Far East. *Rab Bull Eur*. 2009;33(4):5–8.

