

ДИСКУССИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 578.833.26:578.53(470.51/.54)

С. Ю. Ковалев¹, Т. А. Мухачева¹, В. С. Кокорев²

Проблема «смены» генотипа вируса клещевого энцефалита на Среднем Урале за последние 60 лет

¹Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Лаборатория молекулярной генетики, Екатеринбург;
²ФБУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора, лаборатория арбовирусных инфекций, Екатеринбург

Несмотря на 75-летнюю историю изучения клещевого энцефалита, проблема распространения и эволюции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) во многом остается *terra incognita*, поэтому любое исследование в этой области имеет важное фундаментальное и практическое значение. Несколько лет назад была предложена гипотеза о смене генотипов ВКЭ в Свердловской области за 50–60-летний период – вытеснении дальневосточного (Дв-ВКЭ) сибирским (Сиб-ВКЭ) генотипом. В настоящей работе приведены аргументы, опровергающие данное представление. Результаты последних масштабных исследований указывают на многовековую историю формирования вирусной популяции Сиб-ВКЭ на Среднем Урале, а также на заносной характер появления штаммов Дв-ВКЭ в прошлом. В качестве альтернативы гипотезы о смене генотипов ВКЭ рассматривается концепция решающей роли антропогенного фактора в распространении вируса клещевого энцефалита на Урале.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, генотип, распространение, Средний Урал

The Problem of the So-Called "Change" of the Tick-Borne Encephalitis Virus Genotype in the Middle Urals for the Last 60 Years

S. Y. Kovalev¹, T. A. Mukhacheva¹, and V. S. Kokorev²

¹ Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia; ² Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russia

Although the history of the tick-borne encephalitis in Urals dates back to 75 years ago, the problem of the spread and evolution of the tick-borne encephalitis virus (TBEV) largely remains *terra incognita*. Any research in this area is of great basic and practical importance. A few years ago, a hypothesis about the change of the TBEV genotype in the Sverdlovsk region in the 50-60-year period was put forward. In other words, replacement of the Far-Eastern genotype by Siberian genotype was suggested. The goal of this work was to discuss this hypothesis and the fallacy of this view. Recent large-scale data show the long history of the formation of Siberian TBEV virus population in the Middle Urals, as well as a foreign nature of Far-Eastern genotype through their introduction in the past. The concept of the decisive role of anthropogenic factor in the spread of TBEV in the Urals is discussed as an alternative to the hypothesis of the genotype change.

Key words: Tick-borne encephalitis virus, genotype, distribution, the Middle Urals

Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), возбудитель которого был открыт в 1937 г. на Дальнем Востоке, относится к природно-очаговым трансмиссивным зооантропонозам. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) является прототипным представителем одноименной серогруппы вирусов. Его основными переносчиками являются клещи *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*. На основе филогенетического анализа последовательностей генома ВКЭ выделяют 3 основных генотипа: дальневосточный (Дв-ВКЭ), европейский (Ев-ВКЭ) и Сибирский (Сиб-ВКЭ) [17]. Преимущественная циркуляция штаммов Дв-ВКЭ установлена для российского Дальнего востока (Приморский и Хабаровский края, Сахалинская область), Японии и северо-восточной части Китая. В Сибири, на Урале, а также в европейской части России отмечено абсолютное доминирование штаммов Сиб-ВКЭ. Западнее, на территории Восточной и Западной Европы, преобладают штаммы Ев-ВКЭ. Таким образом, каждый из генотипов имеет собственный ареал, хотя штаммы всех трех генотипов встречаются с той или иной частотой и в других регионах [4].

Несмотря на 75-летнюю историю изучения клещевого энцефалита, проблема распространения и эволюции ВКЭ во многом остается *terra incognita*, поэтому любое исследование в этой области имеет важное фундаментальное и практическое значение. В 2007 г. в журнале "Вопросы вирусологии" была опубликована статья "Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя" [15]. В данной публикации авторы, основываясь на сравнении так называемых хронологических рядов штаммов ВКЭ, описали любопытный

феномен изменения генотипического состава штаммов ВКЭ, выделенных на территории Свердловской области в разные годы почти за 70-летний период. На основании этого сделан вывод о том, что в Свердловской области за 60 лет произошли кардинальные изменения в структуре популяций ВКЭ: дальневосточный подтип, который доминировал в 40-е годы XX века, был замещен сибирским подтипом, занявшим его экологическую нишу. Гипотеза смены генотипов ВКЭ нашла отражение в ряде публикаций [1, 5, 7, 16].

Действительно, присутствие штаммов ВКЭ дальневосточного генотипа (Дв-ВКЭ) на территории Свердловской области в 40-е годы прошлого века и их исчезновение к настоящему времени – бесспорный научный факт. Однако предлагаемая интерпретация данного факта не согласуется с общепринятым мнением о клинальном распространении штаммов ВКЭ в западном направлении по Евразийскому континенту [22]. Это противоречие вводит в заблуждение специалистов-эпидемиологов, создавая у них искаженное представление о закономерностях формирования природных очагов КВЭ. Так, в постановлении Главного санитарного врача РФ от 12.05.11 № 53 «Об усовершенствовании эпидемиологического надзора и профилактических мероприятий в отношении клещевого вирусного энцефалита» можно прочесть следующее: «...результаты многолетних исследований в области молекулярной эпидемиологии КВЭ с использованием штаммов, выделенных в разные годы (начиная от 40-х годов XX века до настоящего времени) и на различных территориях Российской Федерации, указывают на то, что за последние 50–60 лет происходит

Контактная информация:

Ковалев Сергей Юрьевич, канд. биол. наук, доцент; e-mail: sergey.kovalev@usu.ru

смена дальневосточного генотипа вируса возбудителя КВЭ на сибирский, что может оказать влияние на эффективность проводимых профилактических мероприятий” [10]. Цель данной статьи – исправить сложившуюся ситуацию и рядом аргументов показать несостоятельность мнения о смене генотипа ВКЭ на Среднем Урале.

Аргумент 1. В статье Kovalev и соавт., 2009 [19] путем сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена Е у 165 изолятов ВКЭ, выделенных в разные годы на территории Свердловской области, была установлена выраженная генетическая структура популяции штаммов Сиб-ВКЭ. Важно то, что изоляты, выделенные на территории Среднего Урала, представляют практически все генетическое разнообразие штаммов Сиб-ВКЭ, встречающихся как в европейской части России и Прибалтийских странах, так и в Восточной и Западной Сибири. На основе расчета скорости нуклеотидных замен установлено, что возраст вирусной популяции составляет приблизительно 4000 лет, т. е. первые штаммы Сиб-ВКЭ появились на Среднем Урале не ранее начала XVII века. Эти данные хорошо согласуются со временем начала колонизации Западной Сибири Московским государством в конце XVI века. Оценка возраста филогенетически близких групп штаммов Сиб-ВКЭ, а также особенности их географического распределения дают основания считать, что распространение штаммов Сиб-ВКЭ на Среднем Урале, а в последующем и в европейской части России происходило в два последовательных этапа. Первый этап связан с первой сухопутной дорогой в Сибирь, действовавшей с 1598 по 1763 г., при этом занос штаммов Сиб-ВКЭ происходил из северо-западной части Западной Сибири (“Балтийская” группа штаммов). Второй этап связан с Транссибирской магистралью (до строительства железной дороги), следствием функционирования которой стало распространение на территории Среднего Урала штаммов из юго-восточной части Западной Сибири (группа штаммов Zausaev) (рис. 1). По территории Свердловской области проходит как северная, так и южная граница ареала клеща *I. persulcatus*, поэтому она являлась важной транзитной территорией, по которой происходило распространение ВКЭ с востока на запад. Продолжительность питания взрослой самки клеща *I. persulcatus* на млекопитающем составляет в среднем 8 ± 2 дня [18], и нетрудно подсчитать, что, преодолевая в день вместе с обозом в среднем 50 км пути, самка клеща могла быть перемещена на расстояние 300–500 км от того места, где она начала питание. Таким образом, в течение столетий клещи могли переноситься на большие расстояния лошадьми, домашним скотом, а также собаками, сопровождающими обозы из Си-

бири. Кроме того, перенос клещей мог происходить за счет миграции вдоль этих дорог синантропных видов млекопитающих и птиц. Роль крупного рогатого скота в распространении вирусов комплекса клещевого энцефалита была продемонстрирована ранее. Так, К. McGuire и соавт. [21] показали, что вирус шотландского энцефалита овец из Ирландии посредством перемещения крупного рогатого скота сначала попал в Великобританию через Уэльс, а затем распространился по территории Шотландии, Северной Англии и Норвегии. Таким образом, основным фактором в распространении штаммов Сиб-ВКЭ на территории Евразии является человек, чья хозяйственная деятельность привела к выносу штаммов вируса из природных очагов, существовавших в Западной Сибири [6].

Исходя из вышеизложенного, можно утверждать, что современная популяция штаммов Сиб-ВКЭ на территории Свердловской области формировалась на протяжении нескольких столетий, а не в течение последних 60 лет, как следует из выводов, сделанных авторами обсуждаемой гипотезы.

Аргумент 2. Для обоснования концепции смены генотипов приводится следующий довод. Причины смены подтипов ВКЭ могут быть связаны с комплексом экологических факторов, прежде всего с изменением экосистем вследствие антропогенной трансформации естественных ландшафтов. Интенсивная промышленная эксплуатация лесов, разнообразных природных ресурсов и другие виды хозяйственной деятельности и социальной активности привели к формированию производных лесов с новыми растительными группировками. На первый взгляд аргументация выглядит логичной, однако не учитывается то обстоятельство, что наряду с вышесказанным происходили и обратные процессы. Так, по материалам информационно-справочной базы данных «Города и села Среднего Урала в XX веке», из 2807 постоянных населенных пунктов, расположенных в сельских районах Свердловской области, в 1930–1980-е годы исчезли по разным причинам 1267 поселений, т. е. 45,1% [9]. Иными словами, на значительной территории Свердловской области антропогенно-трансформированные ландшафты возвращались к своему естественному состоянию как раз в то время, когда, по мнению авторов, происходила смена генотипов ВКЭ. Кроме того, отдельные территории области практически не подвергались промышленной эксплуатации в рассматриваемый период по причине своей экономической бесперспективности, например Верхотурский, Байкаловский и ряд других районов области. Следовательно, на таких территориях должны были сохраниться многочисленные эндемич-



Рис. 1. Две дороги из европейской части России в Сибирь.

--- первая сухопутная дорога в Сибирь (XVII – первая половина XVIII века); — Транссибирская магистраль (вторая половина XVIII века – настоящее время); ■ – “Балтийская” группа штаммов Сиб-ВКЭ; ▼ – штаммы группы Zausaev [6].

ные очаги с циркуляцией штаммов Дв-ВКЭ. К настоящему времени среди более 400 изученных нами современных изолятов ВКЭ, выделенных в разных районах области (в том числе самых отдаленных и малонаселенных), Дв-ВКЭ был зафиксирован только в 1 случае в 2007 г. (Каменск-Уральский район), что составляет менее 0,003% от всех изученных изолятов. Последующие попытки обнаружить в том же районе штаммы ВКЭ этого генотипа были безуспешными.

Таким образом, приходится признать, что предлагаемое авторами теоретическое обоснование своей концепции не выдерживает критики при детальном рассмотрении.

Аргумент 3. В качестве ключевого доказательства смены генотипов ВКЭ приводятся результаты исследования фрагмента генома 23 штаммов, выделенных М. П. Чумаковым и сотр. в 1939–1945 гг. на территории Свердловской области. Ретроспективное генотипирование этих штаммов показало абсолютное доминирование Дв-ВКЭ (22 (95,7%) из 23 штаммов). К сожалению, авторы статьи не указывают, какое число из этих штаммов было выделено из природы, т. е. от клещей и мелких млекопитающих, и сколько – из клинического материала. Однако не менее 7 штаммов из этой группы, фрагмент генома которых впослед-

ствии удалось расшифровать, были выделены от больных и погибших от КВЭ людей. Отсюда можно сделать заключение о том, что значительная доля штаммов начала 40-х годов прошлого века была получена из клинического материала. Нами была изучена коллекция штаммов ВКЭ Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций, собранная с 1966 по 1986 г. Из 59 штаммов, выделенных на территории Свердловской области, 11 (18,6%) принадлежали к Дв-ВКЭ, 6 из них были выделены из клинического материала. Важно отметить, что 5 из них были филогенетически близки вышеупомянутым штаммам 40-х годов [20]. Очевидно, делать достоверные выводы о распределении генотипов ВКЭ на основе таких штаммов нельзя, так как выборка не является случайной. Известно, что КВЭ, вызванный вирусами разных генотипов, может существенно различаться по клиническим проявлениям. Как правило, более тяжелые формы КВЭ с наибольшей летальностью вызывает генотип Дв-ВКЭ, тогда как для заболевания, вызванного Сиб-ВКЭ, характерны лихорадочные и менингеальные формы [4]. Объективно оценить распределение генотипов ВКЭ на отдельно взятой территории можно только по штаммам, выделенным из природного материала. Если учесть это обстоятельство, то приводимые данные о доминировании

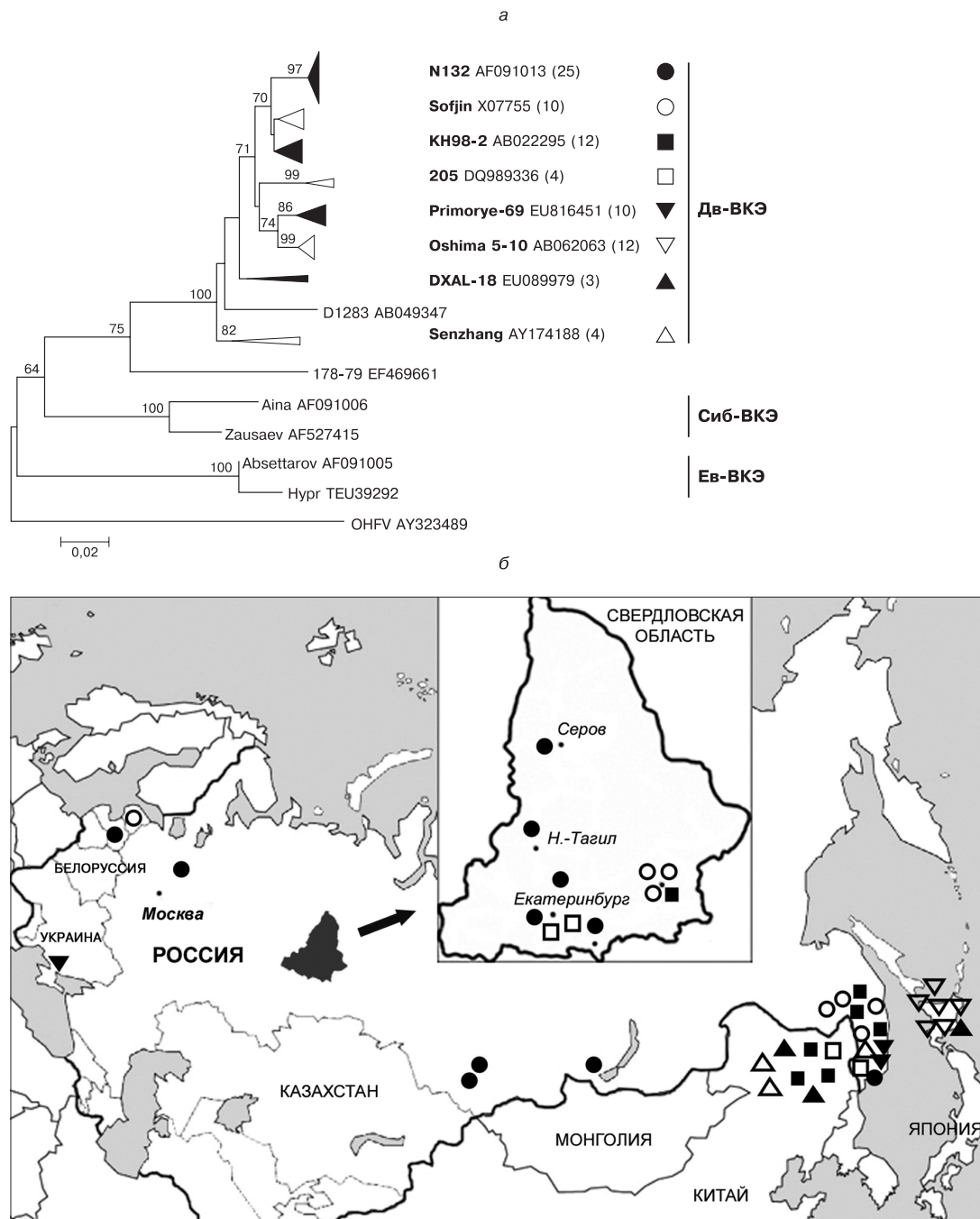


Рис. 2. Распространение штаммов Дв-ВКЭ на территории бывшего СССР: филогенетическая дендрограмма, построенная на сравнении нуклеотидных последовательностей фрагмента гена Е штаммов Дв-ВКЭ (а); география выделения штаммов Дв-ВКЭ на территории бывшего СССР, выноска – территория Свердловской области [20] (б).

Дв-ВКЭ на территории Среднего Урала в 40-е годы прошлого столетия уже не кажутся столь убедительными.

Аргумент 4. Обнаружение штаммов Дв-ВКЭ на территории Среднего Урала не было уникальным явлением. В ретроспективных исследованиях штаммы Дв-ВКЭ были зарегистрированы на территории европейских стран, ранее входивших в состав СССР, – Украины, Латвии, Эстонии, а также в европейской части России – в Вологодской, Ленинградской, Пермской областях и в Сибири – в Кемеровской, Новосибирской, Томской и Иркутской областях [2, 3, 15, 17].

Генетический анализ показывает, что эти штаммы кластеризуются вместе с другими современными штаммами Дв-ВКЭ, выделенными на Дальнем Востоке России и в восточной части Северного Китая, за исключением группы штаммов *Oshima* из Японии (рис. 2, а). Распределение мест выделения штаммов Дв-ВКЭ на территории Среднего Урала и европейской части бывшего СССР носит мозаичный характер без очевидной связи между ними, что говорит в пользу их случайного появления (рис. 2, б). Время выделения большинства из них (почти 90%) приходится на годы существования СССР (до его распада в 1991 г.). Другой важной особенностью штаммов Дв-ВКЭ, выделенных на территории Европы, является то обстоятельство, что география их распространения ограничена на западе европейской частью бывшего Советского Союза и не включает сопредельные государства.

Такое мозаичное распространение Дв-ВКЭ на неэндемичных территориях не согласуется с гипотезой о последовательной эволюции ВКЭ и его последовательной экспансии на новые географические районы. Представить картину параллельной и аналогичной эволюции ВКЭ в ограниченном географическом районе еще сложнее. Это позволяет предположить, что очаги Дв-ВКЭ возникли в новых географических районах относительно недавно. Они могут быть связаны с экономической деятельностью человека в этих районах или заносом инфицированных клещей перелетными птицами [8].

Логично предположить, что антропогенный фактор был определяющим в появлении штаммов Дв-ВКЭ в Восточной Европе, на Урале и в Сибири, как было ранее показано в отношении распространения штаммов Сиб-ВКЭ [19]. В связи с этим мы попытались определить наиболее вероятный вид человеческой деятельности, в результате которой происходило бы перемещение штаммов Дв-ВКЭ на огромные расстояния и который отвечал бы следующим условиям. Во-первых, он не должен был выходить за пределы бывшего СССР, во-вторых, носить случайный, но в то же время постоянный характер и приходиться на годы существования Советского Союза, в-третьих, быть масштабным и охватывать всю территорию бывшего СССР, в-четвертых, иметь отношение к клещам и/или их прокормителям.

В 2010 г. было высказано предположение о том, что одной из причин распространения неэндемичных штаммов ВКЭ стала реализация государственной Программы по акклиматизации охотничье-промысловых зверей и птиц [20]. Эта программа действовала на протяжении более 60 лет с начала 30-х до середины 90-х годов прошлого века, т. е. фактически до распада Советского Союза. Впечатляют масштабы программы. Так, до 1974 г. было расселено 45 видов диких животных (зайцеобразные, хищники и копытные) и 8 видов птиц (тетеревиные, куропатковые, фазановые и водоплавающие). Только пушных зверей было расселено более 430 тыс. особей и более 140 тыс. животных, имеющих значение главным образом для любительской охоты. Трудно точно назвать общее количество переселенных животных за все время действия данной программы, но по грубым оценкам оно составляет более 1 млн особей млекопитающих и более 400 тыс. особей птиц [11–14].

Большинство переселяемых видов зверей и птиц – естественные прокормители иксодовых клещей, которые могли либо переносить вирусформных клещей, либо, будучи инфицированными эндемичными штаммами ВКЭ, заражать ими клещей в местах выпуска. Следует отметить, что реализация программы проходила на территории бывшего СССР и практически не затрагивала другие государства.

В программу было вовлечено большинство областей России, а также союзные республики бывшего СССР. Расселение зверей и птиц носило направленный характер: перемещение в основном с востока на запад, с малонаселенных территорий Восточной Сибири и Дальнего Востока в Западную Сибирь, Урал и особенно в европейскую часть бывшего Советского Союза, включая Эстонию, Латвию, Литву, Белоруссию, Украину.

Средний Урал, представленный главным образом Свердловской областью, был активно вовлечен в Программу. В частности 61 особь пятнистого оленя (*Cervus nippon Temm.*) [12], 123 особи кабана (*Sus scrofa L.*) и 43 особи косули (*Capreolus capreolus L.*) [14] в разное время действия программы были завезены с Дальнего Востока (Приморский и Хабаровский края), и этот список может быть продолжен. Аналогичная ситуация наблюдалась и в европейских областях России, а также в республиках бывшего СССР (Эстония, Латвия, Литва, Белоруссия, Украина). Вышеизложенное дает приемлемое объяснение

факта встречаемости штаммов Дв-ВКЭ на Урале и других неэндемичных для них территориях, а также их быстрого исчезновения. Можно предположить, что штаммы Дв-ВКЭ, не являясь “естественными сочленами” природных очагов Урала, не смогли адаптироваться к региональным биоценозам и элиминировались из вирусной популяции.

Подводя итог, можно с уверенностью утверждать, что проблема смены генотипов не существует, есть проблема нашего понимания причин, в силу которых штаммы Дв-ВКЭ заносились в прошлом на неэндемичные территории.

Несомненно то, что в подавляющем большинстве случаев заноса штаммов Дв-ВКЭ лежит хозяйственная деятельность человека, а не природные факторы, связанные, например, с естественными миграциями зверей и перелетами птиц, как было принято считать ранее. Учитывая антропогенный фактор при постоянном мониторинге генетической структуры вирусной популяции, можно не только выявлять пути распространения неэндемичных штаммов ВКЭ, но и прогнозировать места их возможного появления.

Благодарности

Данная работа была поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (№ 10-04-96062).

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимов С. Г. и др. Взаимодействие сибирского и дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита при микстинфекции в организме млекопитающих. Конкуренция подтипов при острой и инappарантной инфекции // *Вопр. вирусол.* – 2011. – № 3. – С. 41–44.
2. Злобин В. И. и др. Генетическое типирование штаммов вируса клещевого энцефалита на основе анализа уральной гомологии фрагмента гена белка оболочки Е // *Вопр. вирусол.* – 2001. – Т. 46, № 1. – С. 17–22.
3. Злобин В. И. и др. Анализ генетической варибельности штаммов вируса клещевого энцефалита по первичной структуре фрагмента гена белка оболочки Е // *Вопр. вирусол.* – 2001. – № 1. – С. 12–16.
4. Злобин В. И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: этиология, эпидемиология и стратегия профилактики // *Терра Медика Нова.* – 2010. – № 2. – С. 13–21.
5. Карань Л. С. и др. Применение молекулярно-генетических методик для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита // *Бюл. СО РАМН.* – 2007. – № 4 (126). – С. 34–40.
6. Ковалев С. Ю. и др. Происхождение и распространение вируса клещевого энцефалита сибирского субтипа на Среднем Урале, в Европейской части России и Прибалтийских странах // *Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе.* – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. – С. 117–139.
7. Колясникова Н. М. Мониторинг структуры популяций вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западно-Сибирском и Северо-Западном регионах России: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2008.
8. Локтев В. Б. Вирус клещевого энцефалита. Генетические особенности и его изменчивость в современном мире // *Бюл. СО РАМН.* – 2007. – № 4 (126). – С. 14–21.
9. Мазур Л. Н. «Исчезающая» деревня: население неперспективных деревень в Свердловской области в 1970–1980-е гг. Села и деревни Среднего Урала в XX веке: статистико-этнографическое описание. – Екатеринбург: Изд-во Уральского университета, 2003.
10. Онищенко Г. Г. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 12 мая 2011 г. № 53 г. Москва “Об усовершенствовании эпидемиологического надзора и профилактических мероприятий в отношении клещевого вирусного энцефалита” // *Российская газета.* – 2011. – № 5498. – 8 июня.
11. Павлов М. П. и др. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 1. – Киров: Волго-Вятское издательство, 1973.
12. Павлов М. П. и др. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 2. – Киров: Волго-Вятское издательство, 1974.
13. Павлов М. П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 4. – М.; Киров, 1996.
14. Павлов М. П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 3. – Киров, 1999.
15. Погодина В. В. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя // *Вопр. вирусол.* – 2007. – № 5. – С. 16–21.
16. Погодина В. В., Колясникова Н. М. Преобразование популяций вируса клещевого энцефалита в условиях антропогенной трансформации природных очагов // *Медицинская вирусология.* – М., 2008. – Т. 25. – С. 103–114.
17. Ecker M. et al. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia // *J. Gen. Virol.* – 1999. – Vol. 80, N 1. – P. 179–185.
18. Kimai S. et al. Establishment of a laboratory colony of taiga tick *Ixodes persulcatus* for tick-borne pathogen transmission studies // *Jpn. J. Vet. Res.* – 2008. – Vol. 55, N 2–3. – P. 85–92.
19. Kovalev S. Y. et al. 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 // *J. Gen. Virol.* – 2009. – Vol. 90, N 12. – P. 2884–2892.
20. Kovalev S. Y. et al. Distribution of Far-Eastern TBEV subtype strains in the former Soviet Union // *J. Gen. Virol.* – 2010. – Vol. 91, N 12. – P. 2941–2946.
21. McGuire K. et al. Tracing the origins of louping ill virus by molecular phylogenetic analysis // *J. Gen. Virol.* – 1998. – Vol. 79, N 5. – P. 981–988.
22. Zanotto P. M. et al. An arbovirus cline across the northern hemisphere // *Virol. og.* – 1995. – Vol. 210, N 1. – P. 152–159.

Поступила 03.11.11