

virome compositions and lack of viral diversification indicate that viral spillover is a dead-end between the western honey bee and the common eastern bumblebee // *Commun. Biol.* 2025; 8(1): 926. DOI: 10.1038/s42003-025-08351-x

21. Meeus I., de Miranda J.R., de Graaf D.C., Wackers F., Smagghe G. Effect of oral infection with Kashmir bee virus and Israeli acute paralysis virus on bumblebee (*Bombus terrestris*) reproductive success // *J. Invertebr. Pathol.* 2014; 121: 64-9. DOI: 10.1016/j.jip.2014.06.011

22. Monceau K., Bonnard O., Moreau J., Thiery D. Spatial distribution of *Vespa velutina* individuals hunting at domestic honeybee hives: heterogeneity at a local scale // *Insect Sci.* 2014; 21(6): 765-774. DOI: 10.1111/1744-7917.12090

23. Niu J., Meeus I., Smagghe G. Differential expression pattern of Vago in bumblebee (*Bombus terrestris*), induced by virulent and avirulent virus infections // *Sci. Rep.* 2016; 6: 34200. DOI: 10.1038/srep34200

24. Ratnieks F.L., Carreck N.L. Ecology. Clarity on honey bee collapse? // *Science.* 2010; 327(5962): 152-153. DOI: 10.1126/science.1185563

25. Rodriguez-Flores M.S., Mazzei M., Felicioli A., Dieguez-Anton A., Seijo M.C. Emerging risk of cross-species transmission of honey bee viruses in the presence of invasive vespidae species // *Insects.* 2022; 14(1): 6. DOI: 10.3390/insects14010006

26. Schlappi D., Chejanovsky N., Yatez O., Neumann P. Foodborne transmission and clinical symptoms of honey bee viruses in ants *Lasius* spp. // *Viruses.* 2020; 12(3): 321. DOI: 10.3390/v12030321

27. Schlappi D., Kettler N., Glauser G., Straub L., Yanez O., Neumann P. Varying impact of neonicotinoid insecticide and acute bee paralysis virus across castes and colonies of black garden ants, *Lasius niger* (Hymenoptera: Formicidae) // *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 20500. DOI: 10.1038/s41598-021-98406-w

28. Tan K., Hu Z., Chen W., Wang Z., Wang Y., Nieh J.C. Fearful foragers: honey bees tune colony and individual foraging to multi-predator presence and food quality // *PLoS One.* 2013; 8(9): e75841. DOI: 10.1371/journal.pone.0075841

29. Wang H., Meeus I., Smagghe G. Israeli acute paralysis virus associated paralysis symptoms, viral tissue distribution and Dicer-2 induction in bumblebee workers (*Bombus terrestris*) // *J. Gen. Virol.* 2016; 97(8): 1981-1989. DOI: 10.1099/jgv.0.000516

30 Yang S., Gayral P., Zhao H., Wu Y., Jiang X., Wu Y., Bigot D., Wang X., Yang D., Herniou E.A., Deng S., Li F., Diao Q., Darrouzet E., Hou C. Occurrence and molecular phylogeny of honey bee viruses in vespids // *Viruses.* 2019; 12(1): 6. DOI: 10.3390/v12010006

Сведения об авторах

Мерлов Евгений Константинович - заведующий сектором экспериментальной биомедицины НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; e-mail: zhenya.merlov.2000@mail.ru

УДК: 575.22: 578.833.2Flavivirus
DOI: 10.62963/2073-2899-2025-50-120-124

К РЕВИЗИИ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА (*ORTHOFLAVIVIRUS ENCEPHALITIDIS*)

¹П.Г. Милованкин, ¹В.А. Лубова, ¹А.Л. Шутикова, ^{1,2}О.В. Иунихина,
¹Д.В. Панкратов, ^{1,2}М.Ю. Щелканов

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

²Школа медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Российская Федерация

Целью настоящего исследования было изучение топологической структуры дендрограммы иерархических отношений для полногеномных нуклеотидных последовательностей штаммов вируса клещевого энцефалита, представленных в международной базе молекулярно-генетических данных в GenBank. Все штаммы этого вируса подразделяются на шесть геноти-

пов в соответствие с современной номенклатурой: дальневосточный, сибирский, европейский (исторические), байкальский, гималайский, 178–79. Чётко выделяются два суперкластера: первый полностью совпадает с европейским генотипом, а второй включает все остальные генотипы, однако по критерию топологической компактности его ядром является дальневосточный генотип, который и должен претендовать на обобщающее название второго кластера. Полученные данные свидетельствуют о необходимости масштабной ревизии генотипической структуры вируса клещевого энцефалита.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, дальневосточный генотип, сибирский генотип, европейский генотип, байкальский генотип, гималайский генотип, генотип 178–79

FOR THE REVISION OF THE GENOTYPIC STRUCTURE OF THE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS (*ORTHOFLAVIVIRUS ENCEPHALITIDIS*)

¹P.G. Milovankin, ¹V.A. Lubova, ¹A.L. Shutikova, ^{1,2}O.V. Iunikhin, ¹D.V. Pankratov,

^{1,2}M.Yu. Shchelkanov

¹G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation

²School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

The purpose of this study was to study the topological structure of the dendrogram of hierarchical relationships for the complete genome nucleotide sequences of tick-borne encephalitis virus strains presented in the international database of molecular genetic information (GenBank). All strains of this virus are divided into six genotypes in accordance with modern nomenclature: Far Eastern, Siberian, European (historical), Baikal, Himalayan, 178-79. Two superclusters are clearly distinguished: the first one completely coincides with the European genotype while the second one includes all other genotypes. However, according to the criterion of topological compactness, its core is the Far Eastern genotype, which should claim the generalizing name of the second cluster. The data obtained indicate the need for a large-scale revision of the genotypic structure of the tick-borne encephalitis virus.

Keywords: tick-borne encephalitis virus, Far Eastern genotype, Siberian genotype, European genotype, Baikal genotype, Himalayan genotype, genotype 178-79.

Вирус клещевого энцефалита (Amarillovirales: Flaviviridae, *Orthoflavivirus*), или *Orthoflavivirus encephalitis* ¹, относится к внетаксономической экологической группе арбовирусов, распространяемых иксодовыми клещами (Parasitiformes: Ixodidae) [12, 14, 16]. Природные очаги *O. encephalitis* в Северной Евразии формируют практически непрерывную полосу от Атлантического до Тихого океана в зоне средней и южной тайги, хвойно-широколиственных и широколиственных лесов, а также постепенно истончающееся «кружево ареала» в лесостепи и в северной тайге [5, 8, 17–19]. В антигенную группу клещевого энцефалита входят 9 вирусов: Алхурма (*O. alkhumai*), клещевого энцефалита (*O. encephalitis*), Гаджетс-Галли (*O. gadgetsense*), леса Кысанур (*O. kysanurensis*), Лангат (*O. langatense*), Негиши (*O. negishi*), омской геморрагической лихорадки (*O. omskensis*), Повассан (*O. powassanensis*), Карши (*O. royalsensis*) [14, 9, 11, 15, 25].

Основными переносчиками и естественным резервуаром *O. encephalitis* в природе являются иксодиды *Ixodes ricinus* (в Европе) и *I. persulcatus* (в Азии). Дополнительные переносчики: *I. pavlovskyi*, *Dermacentor pictus*, *D. silvarum*, *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica* и ещё около 14 видов клещей. Передача вируса может осуществляться трансфазно и трансовариально. Вирусофорность клещей постоянно поддерживается за счёт того, что они питаются кровью различных животных – копытных (Cetartiodactyla), грызунов (Rodentia), птиц (Aves) – многие из которых являются эффективными амплификаторами *O. encephalitis* [10, 13, 14]. Основной путь заражения человека – это прикрепление и питание клеща; второстепенный – при попадании биологических жидкостей заражённого клеща в рану или слизистые оболочки (при расчёсах, раздавлении и т.п.); ещё реже – алиментарно (при употреблении в пищу сырого молока коз и коров) [6, 12, 14, 20, 22]. Передача от человека к человеку невозможна. Известны случаи передачи *O. encephalitis* через переливание крови и кормление грудью [1, 14, 27].

Геном *O. encephalitis* кодирует 3 структурных белка (капсидный белок С, мембранный М, поверхностный Е) и 7 неструктурных белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5). Оболочечная вирусная частица икосаэдрический капсид диаметром 40–60 нм. Геном вируса представляет собой

¹ Наряду с традиционными названиями вирусов, мы будем использовать бинарную номенклатуру [23], рекомендованную ICTV (International Committee on the Taxonomy of Viruses – Международным комитетом по таксономии вирусов).

одноцепочечную положительно-смысловую РНК размером в среднем порядка 11 тысяч пар нуклеотидов и кодирует единственный полипротеин-предшественник протяжённостью 3414 аминокислот, который расщепляется вирусными и клеточными протеазами на перечисленные выше белковые продукты [3, 6, 25, 26].

Современная генотипическая классификация *O. encephalitis* выделяет три основных (исторических) генотипа – дальневосточный, сибирский, европейский – и ещё два генотипа, надёжно охарактеризованных уже в нынешнем веке: Байкальский и Гималайский (Тибетский, или Цинхайский); штамм 178–79 рассматривается пока как «зародыш» возможного генотипа (возможно, это архаичная генетическая линия, «растворившаяся» в других генотипах) [4, 7, 14, 21, 24, 25, 28]. Эталонные штаммы дальневосточного генотипа (Sofjin), сибирского (Aina) и европейского (Найдорф) депонированы, в частности, в Коллекцию патогенных микроорганизмов НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора [2].

В международной базе молекулярно-генетических данных GenBank, на сегодняшний день, содержится 543 нуклеотидных последовательности, которые целиком включают открытую рамку считывания для полипротеина-предшественника. Эти последовательности элайнмированы с помощью Unipro UGENE 52.1 и использованы для кластерного анализа с помощью программного обеспечения RStudio 2025.05.1 (алгоритм Complete linkage); в качестве аутгруппы в дендрограмму была добавлена полногеномная последовательность *O. omskense* / Kubrin (GenBank ID: AY438626). Анализ топологической структуры осуществляли с помощью собственных скриптов в программе MatLab R2019b.

В полученной дендрограмме (рис. 1) можно выделить не меньше шести кластеров, каждый из которых может претендовать на роль самостоятельного генотипа при выборе соответствующего порогового значения генетических отличий между генотипами. Дальневосточный генотип представлен 148 нуклеотидными последовательностями, сибирский – 116, европейский – 252, Байкальский – 23. Гималайский генотип представлен двумя штаммами: *O. encephalitis* / Himalaya-1 (GenBank ID MG599476) и *O. encephalitis* / Himalaya-2 (GenBank ID MG599477). Генотип 178–79 представлен тоже двумя штаммами: *O. encephalitis* / 178-79 (GenBank ID EF469661) и *O. encephalitis* / Hulunbuir (GenBank ID PV626569).

Если в первой половине прошлого века клещевой энцефалит считался заболеванием, эндемичным для Дальнего Востока, то уже к концу 1960-х гг. стало окончательно, что ареал *O. encephalitis* имеет транс-Евразийское простираение. После выделения трёх исторических генотипов (дальневосточного, сибирского и европейского) возникла концепция, что именно «бескрайние просторы Сибири» являются прародиной *O. encephalitis*, где и сформировался основной («корневой») сибирский генотип, который затем распространился на запад и восток, положив начало европейскому и дальневосточному генотипам, соответственно.

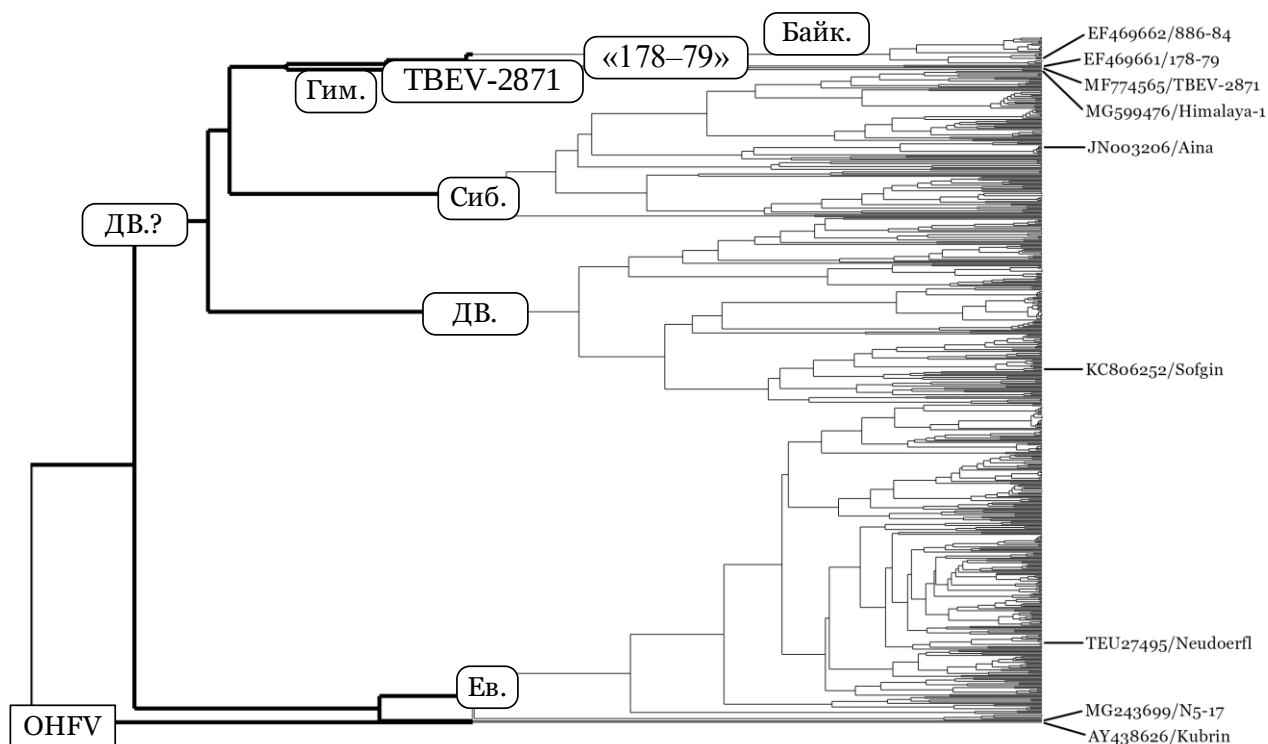


Рис. 1. Дендрограмма нуклеотидных последовательностей полноразмерных геномов (543) вируса клещевого энцефалита (*Orthoflavivirus encephalitis*) с указанием генотипов: «Байк.» –

байкальский; «Гим.» – гималайский; «Сиб.» – сибирский; «ДВ.» – Дальневосточный; «Ев.» – европейский. Внешний референс – штамм Кубрин вируса омской геморрагической лихорадки (*O. omskense*).

Однако даже беглый взгляд на рис. 1 вселяет серьезные сомнения в описанную выше схему «сибирецентричности» генотипов *O. encephalitis*: четко выделяются два крупных кластера, один из которых европейский генотип, а другой не имеет пока названия. Европейский генотип наиболее компактный, хотя и в нём выделяются «выбросы», наиболее заметным из которых является штамм *O. encephalitis* / N5-17 (GenBank ID MG243699), выделенный из альпийской серны (*Rupicapra rupicapra*). Вместе с тем, если выбирать «ядерную» часть второго кластера, используя топологическую меру (понимаемую как математический термин), то наиболее компактным является субкластер, включающий именно штаммы дальневосточного генотипа. Таким образом, было бы корректно охарактеризовать два суперкластера на рис. 1 как европейский и дальневосточный.

Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее рыхлым в топологическом отношении является кластер, содержащий штаммы гималайского, байкальского и 178–79 генотипов: в него, в частности, попали штаммы *O. encephalitis* так называемой «Обской генетической линии» - например, штамм *O. encephalitis*/TBEV-2871 (GenBank ID MF774565).

Таким образом, с топологической точки зрения, концепция «сибирецентричности» генотипов *O. encephalitis* вызывает серьезные сомнения. Необходимы масштабные молекулярно-генетические исследования и сопоставления для выяснения эволюции различных генетических линий этого вируса, сформировавшей его современные генотипы.

Литература

1. Гайворонская А.Г., Галицкая М.Г., Намазова-Баранова Л.С. Этиология, клинические проявления, лечение и профилактика клещевого энцефалита // Педиатрическая фармакология. 2013; 10(2): 34-39.
2. Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н., Калинин А.В. и др. 80 лет на страже биологической безопасности у восточных рубежей России // Здоровье населения и среда обитания. 2021; (5): 5-15. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-5-15
3. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука, 2015; 228 с.
4. Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Кривошеина Е.И. и др. Генотипирование возбудителей клещевого энцефалита и лихорадки Кемерово в таёжных клещах, собранных в республике Коми // Инфекции и иммунитет. 2020; 10(1): 159-166. DOI: 10.15789/2220-7619-GOT-1147
5. Коренберг Э.И. Биохорологическая структура вида (на примере таёжного клеща). М.: Наука, 1979; 171 с.
6. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: Комментарий, 2013; 464 с.
7. Локтев В.Б. Вирус клещевого энцефалита. Генетические особенности и его изменчивость в современном мире // Бюллетень СО РАМН. 2007; 4(126): 14-21.
8. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристов В.А. и др. Атлас распространения возбудителей природноочаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: Изд-во НПЦ ТМГ МЗ РФ, 2001; 192 с.
9. Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю. и др. Генетическая характеристика вируса Повассан (POWV – Powassan virus), изолированного от клещей *Haemaphysalis longicornis* в Приморском крае, и двух штаммов вируса клещевого энцефалита (Flaviviridae, Flavivirus): Алма-Арасан (AAV – Alma-Arasan virus), изолированного от клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане, и Малышево (MALOV – Malyshevo virus), изолированного от комаров *Aedes vexans nipponii* в Хабаровском крае // Вопросы вирусологии. 2014; 59(5): 18-22.
10. Лубова В.А., Леонова Г.Н., Шутикова А.Л. Роль иксодовых клещей в циркуляции возбудителей клещевых инфекций на юге Дальнего Востока // Экология человека. 2020; 27(2): 58-64. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-2-58-64
11. Ляпина О.В., Громашевский В.Л., Прилипов А.Г. Организация генома вируса Карши (штамм LEIV-2247 UZ) и его филогенетические взаимоотношения с представителями рода *Flavivirus* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2006; (4): 35-40.
12. Медицинская вирусология / Ред.: академик Д.К. Львов. М.: МИА, 2008; 655 с.
13. Попов И.В., Харит С.М. Клещевой энцефалит: этиология, вакцинация, профилактика // Terra Medica. 2011; (1):15-19.
14. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: академик Д.К. Львов. М.: МИА, 2013; 1200 с.
15. Шутикова А.Л., Лубова В.А., Щелканов М.Ю. Генетическая характеристика штаммов вируса клещевого энцефалита из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2023; (45): 148-150.

16. 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): 22-25.
17. Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология: история становления основных концепций // В сб.: Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014; 6-20.
18. Щелканов М.Ю., Аристов В.А., Чумаков В.М., Львов Д.К. Историография термина «природный очаг» // В сб.: Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014; 21-32.
19. Щелканов М.Ю., Леонова Г.Н., Галкина И.В., Андрюков Б.Г. У истоков концепции природной очаговости // Здоровье населения и среда обитания. 2021; (5): 16-25. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-338-5-16-25
20. Щучинова Л.Д., Щучинов Л.В., Деева А.А., Злобин В.И. Случаи заражения клещевым энцефалитом через непастеризованное молоко коз // Национальные приоритеты России. 2016; 2(20): 72-75.
21. Dai X., Shang G., Lu S., et al. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China // Emerging Microbes & Infections. 2018. 7(1): 1-9. DOI: 10.1038/s41426-018-0081-6
22. Herzig R., Patt C.M., Prokes T. An uncommon severe clinical course of European tick-borne encephalitis // Biomedical Papers. 2002; 146(2): 63-67. DOI: 10.5507/bp.2002.013
23. Khotimchenko Yu.S., Shchelkanov M.Yu. Viruses of the Ocean: On the shores of the aqua incognita. Horizons of taxonomic diversity // Rus. J. Marine Biol. 2024; 50: 1-24. DOI: 10.1134/S106307402401005X
24. Kovalev S.Y., Mukhacheva T.A. Reconsidering the classification of tick-borne encephalitis virus within the Siberian subtype gives new insights into its evolutionary history // Infection, Genetics and Evolution. 2017; 55: 159-165. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.09.014
25. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. Academic Press, 2015; 452 p.
26. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., et al. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis // Journal of General Virology. 2009; 90(8): 1781-1794. DOI: 10.1099/vir.0.011437-0
27. Wahlberg P., Saikku P., Brummer-Korvenkontio M. Tick-borne viral encephalitis in Finland: the clinical features of Kumlinge disease during 1959-1987 // J. Intern. Med. – 1989; 225: 173-177.
28. Zhang M., Tian J., Li H., Cang M. The comparative genomic analysis provides insights into the phylogeny and virulence of tick-borne encephalitis virus vaccine strain Senzhang // PLoS ONE. 2022; 17(8): e0273565. DOI: 10.1371/journal.pone.0273565

Сведения об ответственном авторе:

Милованкин Павел Геннадьевич - м.н.с. Центра молекулярной диагностики НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; e-mail: academkin@mail.ru

УДК: 57.083:578.5:578.834.1Coronavirus
DOI: 10.62963/2073-2899-2025-50-124-130

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНФЕКЦИИ SARS-COV-2 НА 3D-КУЛЬТУРАХ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СФЕРОИДОВ, ФОРМИРУЕМЫХ КЛЕТОЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ

¹А.А. Михалко, ¹Н.В. Крылова, ¹Е.В. Персиянова, ¹О.С. Майстровская,
¹П.Г. Милованкин, ^{1,2}Ю.А. Белов, ¹Т.А. Кузнецова, ^{1,2}М.Ю. Щелканов

¹ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

² Школа медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Российская Федерация