

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-189

**ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ФЛАВИПОДОБНЫХ ВИРУСОВ
В ОБРАЗЦАХ КЛЕЩЕЙ *IXODES PERSULCATUS* И *IXODES PAVLOVSKYI*,
СОБРАННЫХ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ**

DETECTION OF GENETIC MARKERS OF FLAVI-LIKE VIRUSES IN SAMPLES OF TICKS *IXODES PERSULCATUS* AND *IXODES PAVLOVSKYI* COLLECTED IN THE NOVOSIBIRSK REGION

К. В. Карелина, Р. Б. Баяндин, С. Е. Пашковский, В. А. Терновой

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово

K. V. Karelina, R. B. Bayandin, S. E. Pashkovsky, V. A. Ternovoi

State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo

✉ karelina_kv@vector.nsc.ru

Аннотация

Jingmenvirus (JMV) представляют собой группу флавиподобных одноцепочечных РНК-вирусов с положительным смыслом и сегментированным геномом (4 сегмента), относящихся к семейству *Flaviviridae*, переносчиками которых являются клещи. В последнее время появляются данные о выявлении новых флавиподобных вирусов, передающихся клещами, у пациентов с лихорадками.

Нами был проведен скрининг клещей, собранных в Новосибирской области, с целью выявления сегментированных флавиподобных вирусов на территории Новосибирской области. В исследование было взято 235 клещей вида *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovkyi* (47 пулов), методом ПЦР выявлено 7 положительных образцов на РНК *Jingmen tick virus*, уровень инфицированности составил $14,8 \pm 2 \%$.

Abstract

Jingmenviruses (JMV) are a group of flavi-like single-stranded RNA viruses with positive sense and segmented genome (4 segments) belonging to the family *Flaviviridae*, which are transmitted by ticks. Recently, there are emerging data on the detection of novel tick-borne *Flaviviridae*-like viruses in febrile patients.

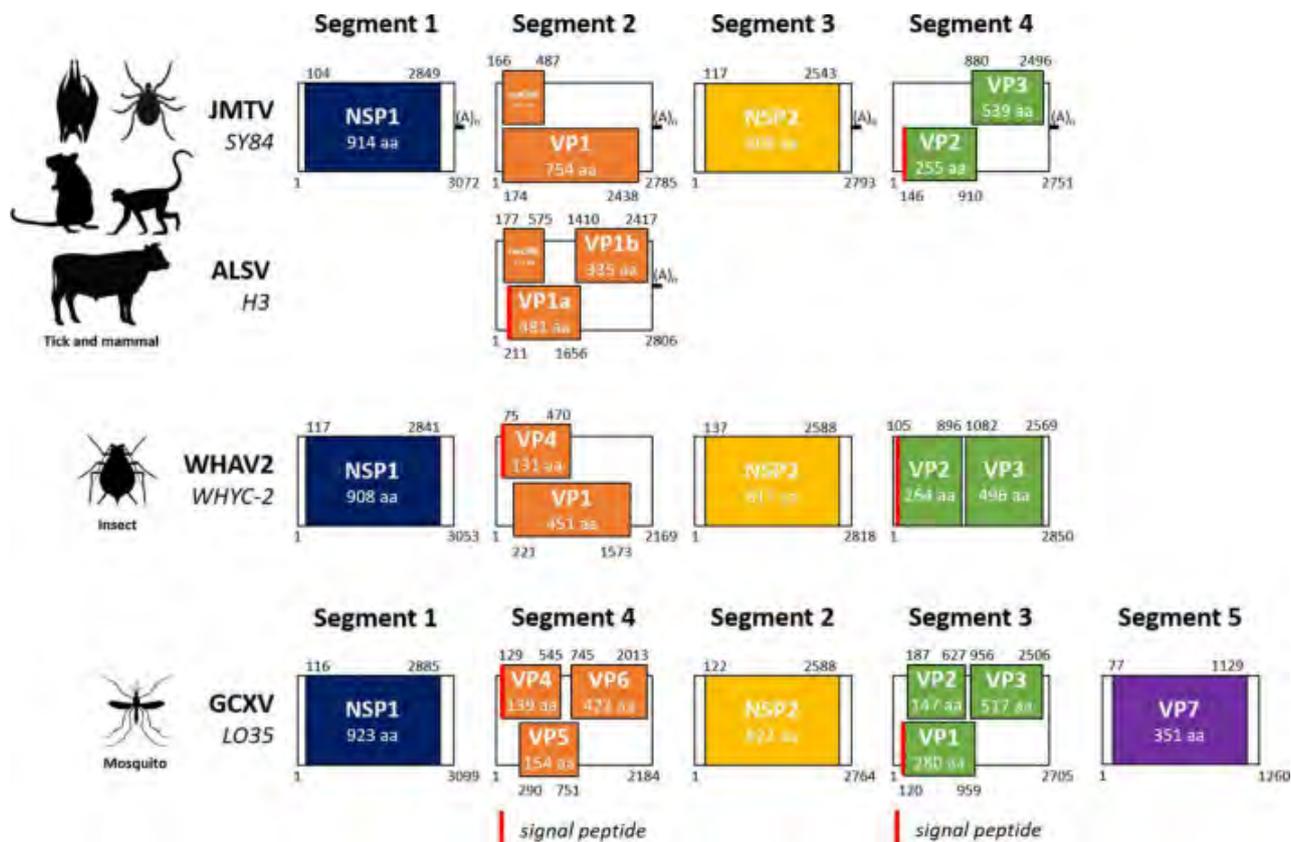
We screened ticks collected in the Novosibirsk region to detect segmented flavi-like viruses in the Novosibirsk region. 235 ticks of *Ixodes persulcatus* and *Ixodes pavlovkyi* species (47 pools) were taken into the study; PCR method revealed 7 positive samples for *Jingmen tick virus* RNA, the infection rate amounted to $14.8 \pm 2 \%$.

В последнее время обнаружено множество новых флавиподобных вирусов и, как недавно было показано, некоторые из них могут быть идентифицированы у людей с лихорадочными и гриппоподобными симптомами [1, 2]. Группа *Jingmenvirus* (JMV) занимает особое место среди флавивирусов, поскольку они имеют сегментированный одноцепочечный РНК-геном. В нее входят такие вирусы, как *Alongshan virus* (ALSV), *Takachi virus* (TAKV), *Jingmen tick virus* (JMTV) и др. *Jingmenvirus* — это группа вирусов, классифицированных Международным комитетом по таксономии вирусов как неклассифицированные *Flaviviridae* — флавиподобные вирусы [3] (см. рисунок).

Прототип вируса группы *Jingmen* (JMV) был обнаружен у клещей *Rhipicephalus microplus*, собранных в городе Цзинмэнь (провинция Хубей, Китай), в 2010 г. [3]. Геномы вирусов данной группы состоят из четырех-пяти сегментов, кодирующих до семи структурных белков и двух неструктурных белков. Неструктурные белки демонстрируют высокую гомологию с флавивирусными неструктурными белками (NS2B/NS3 и NS5) [4].

С момента открытия последовательности вирусов группы JMV были обнаружены в образцах членистоногих, происходящих из четырех континентов: Азии (Китай, Лаосская Народно-Демократическая Республика, Япония), Европы (Турция, Италия, Косово, Румыния, Россия), Америки (Бразилия, Тринидад и Тобаго, Французские Антильские острова, Колумбия) и Африки (Уганда, Гвинея, Кения). На сегодняшний день наиболее часто выявляют РНК вирусов группы JMV у клещей *R. microplus* [3].

Помимо членистоногих, РНК вирусов группы JMV была обнаружена у позвоночных: крупного рогатого скота, приматов, летучих мышей, грызунов, черепах [3]. Серологические и генетические маркеры флавиподобных вирусов были также обнаружены у пациентов с лихорадочными и гриппоподобными симптомами в Китае и Сербии [1, 2].



Сравнение сегментированных геномов некоторых флавиподобных вирусов [3]

Несмотря на появление большого количества новых данных о флавиподобных вирусах, требуются дальнейшие исследования многих аспектов, таких как тропизм вирусов, цикл передачи, структура и механизмы репликации и рестрикции, а также эпидемиология. Необходим постоянный мониторинг циркуляции и генетических изменений для выявления вариантов, способных преодолевать видовой барьер и обладающих эпидемическим потенциалом.

Материалы и методы

Для исследования были взяты 235 клещей вида *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskiyi*, собранных на флаг в городских и пригородных биотопах Новосибирска и Новосибирской области. Выделение нуклеиновых кислот проводили методом фенол-хлороформной экстракции с использованием коммерческого набора «Литех» (Москва) согласно инструкции производителя. Клещи объединялись в пулы по 5 штук. Всего 47 пулов. Тестирование исследуемых образцов проводилось с помощью ОТ-ПЦР с праймерами для выявления фрагмента РНК 4-го сегмента (длиной около 400 п.о) вирусов группы *Jingmen* (JMV). Секвенирование фрагментов нуклеиновых кислот проводили методом Сэнгера с помощью автоматического секвенатора 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Полученные последовательности анализировали с помощью программ BLAST и Mega X.

Результаты

На наличие генетического материала флавиподобных вирусов были исследованы 47 пулов клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskiyi*, отловленных в весенне-летний сезон 2023 г. в Новосибирске и Новосибирской области.

Методом ПЦР было выявлено 7 положительных образцов, уровень инфицированности составил $14,8 \pm 2\%$. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей Blast показал, что выявленные вирусы относятся к *Jingmen tick virus* (JMTV) с уровнем гомологии 95,3 % (сравнение по 4-му сегменту). Наибольший уровень гомологии был с последовательностями из Китая.

Положительные пулы были секвенированы для идентификации вида клещей двумя парами праймеров по митохондриальной 16S рРНК и гену цитохромоксидазы. Количество пулов клещей вида *Ixodes persulcatus* составило 4 (57,1 %) и *Ixodes pavlovskiyi* — 3 (42,9 %).

Полученные данные подтверждают активную циркуляцию флавиподобных вирусов на территории Новосибирска и Новосибирской области.

Заключение

Таким образом, впервые клещи Новосибирской области видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskyi* были протестированы на наличие флавиподобных сегментированных вирусов. Полученные результаты требуют проведения дополнительных исследований как в отношении диапазона хозяев сегментированных флавиподобных вирусов и точной идентификации вирусов, так и их патогенетических свойств для людей и животных.

Литература

1. Jia N., Liu H. B., Ni X. B. et al. Emergence of human infection with Jingmen tick virus in China: A retrospective study // *EbioMedicine*. 2019. Vol. 43. P. 317–324.
2. Temmam S., Bigot T., Chrétien D. et al. Insights into the Host Range, Genetic Diversity, and Geographical Distribution of Jingmenviruses // *mSphere*. 2019. Vol. 4. P. e645–e619.
3. Qin X. C., Shi M., Tian J. H. et al. A tick-borne segmented RNA virus contains genome segments derived from unsegmented viral ancestors // *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A*. 2014. Vol. 111. P. 6744–6749.
4. Colmant A. M. G., Charrel R. N., Coutard B. Jingmenviruses: Ubiquitous, understudied, segmented flavi-like viruses // *Front Microbiol*. 2022 Oct 10. Vol. 13. 997058.