

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-432>



Изучение особенностей циркуляции и свойств вируса Западного Нила в России в 2022 году

Топорков А.В., Путинцева Е.В., Удовиченко С.К.✉, Бородай Н.В., Молчанова Е.В., Бондарева О.С., Антонов А.С.

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград, Россия

Аннотация

Актуальность работы обусловлена необходимостью оценки реального распространения лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в России, анализа эпизоотического и эпидемического процессов и изучения популяционной структуры вируса Западного Нила (ВЗН).

Цель — получить объективные данные об интенсивности циркуляции ВЗН на отдельных территориях России и изучить генетическое разнообразие и свойства выделенных штаммов возбудителя.

Материалы и методы. Исследовано 4564 пробы полевого материала из 23 субъектов Российской Федерации и 1547 проб клинического материала из 12 субъектов Российской Федерации. Использован комплекс методов лабораторной диагностики: иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, вирусологический, секвенирование.

Результаты. У 20 (1,5%) из 1331 обследованного лихорадящего пациента выявлены IgM к ВЗН, в том числе впервые в Карачаево-Черкесской Республике, Тверской и Владимирской областях. Наличие иммунной прослойки к ВЗН установлено в среднем у 8,6% населения 11 субъектов с высокими значениями серопревалентности в Запорожской (24,5%), Тульской (15,4%) и Курской (11,1%) областях. Низкоавидные IgG-антитела выявлены в 44 (2,8%) пробах у населения 9 субъектов. Подтверждена интенсивная циркуляция ВЗН 2-го генотипа в эпизоотическом цикле на юге европейской части России. Выделены 12 изолятов ВЗН, в том числе впервые в Республике Крым, Карачаево-Черкесской Республике и Ставропольском крае, изучены патогенные свойства вируса для беспородных белых мышей с определением инкубационного периода заболевания, рассчитана ЛД₅₀. Установлена неоднородность циркулирующих штаммов возбудителя ЛЗН, относящихся к двум кладам ВЗН 2-го генотипа, сформированным в 2021 и 2022 гг.

Выводы. В ходе комплексных мониторинговых исследований установлена новая северная граница ареала ЛЗН, которая по состоянию на 2022 г. проходит на территории Тверской области. Данные сероэпидемиологических исследований, в том числе с обнаружением низкоавидных IgG-антител, подтверждают достаточно интенсивный, но не диагностируемый контакт населения европейской части России с возбудителем ЛЗН. В южном регионе европейской части России преимущественно циркулирует ВЗН 2 генотипа, относящийся как минимум к 2 кладам, сформированным в 2021 и 2022 гг.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, мониторинг за возбудителем, иммунная прослойка, штаммы вируса Западного Нила

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (протокол № 3 от 25.04.2022).

Благодарность. Выражаем благодарность руководителям и сотрудникам Управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, Центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, научно-исследовательских и противочумных учреждений Роспотребнадзора за организацию и участие в сборе материала для исследования.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Топорков А.В., Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Бородай Н.В., Молчанова Е.В., Бондарева О.С., Антонов А.С. Изучение особенностей циркуляции и свойств вируса Западного Нила в России в 2022 году. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(1):114–126.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-432>

EDN: <https://www.elibrary.ru/xvakzi>

Study of the circulation and properties of the West Nile virus in Russia in 2022

Andrey V. Toporkov, Elena V. Putintseva, Svetlana K. Udovichenko[✉], Natalya V. Boroday, Elena V. Molchanova, Olga S. Bondareva, Aleksander S. Antonov

Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russian Federation

Abstract

Introduction. The relevance of the study is due to the need to assess the real expansion of West Nile fever (WNF) in Russia, analyze the manifestations of epizootic and epidemic processes and study the population structure of West Nile virus (WNV).

Aim. To obtain objective data on the intensity of WNV circulation in certain territories of Russia and study the properties of the isolated strains of the pathogen.

Materials and methods. 4564 samples of field material from 23 subjects of the Russian Federation and 1547 samples of clinical material from 12 subjects of the Russian Federation were examined. A set of laboratory diagnostic methods was used: ELISA, RT-PCR, virological, sequencing.

Results. In 20 out of 1331 (1.5%) examined febrile patients, IgM antibodies to WNV were detected, including positive cases identified for the first time in the Karachay-Cherkess Republic, Tver and Vladimir regions. The presence of immunity to WNV was found on average in 8.6% of 11 federal subjects' population with high seroprevalence rates in Zaporozhye (24,5%), Tula (15,4%) and Kursk (11,1%) regions. Low-avidity IgG antibodies were detected in 44 (33,1%) samples from a population of 9 federal subjects. Intensive circulation of WNV lineage 2 in the epizootic cycle in the southern part of European Russia was confirmed. 12 WNV isolates were obtained, including those isolated for the first time in the Republic of Crimea, the Karachay-Cherkess Republic and the Stavropol Territory. The heterogeneity of circulating WNF causative agent's strains related to the two clades of the WNV lineage 2 formed in 2021 and 2022 was established.

Conclusion. In the course of comprehensive monitoring studies, a new northern border of the WNF range was established, which as of 2022 passes through the territory of the Tver region. Data from seroepidemiological studies, including the detection of low-avidity IgG antibodies, confirm fairly intense, but undiagnosed contact of the population of the European part of Russia with the WNF pathogen. In the southern region of the European part of Russia, WNV genotype 2 predominantly circulates, belonging to at least two clades formed in 2021 and 2022.

Keywords: West Nile fever, pathogen monitoring, immunity, the properties of West Nile virus strains

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Volgograd Research Institute for Plague Control (protocol No. 3, April 25, 2022).

Acknowledgment. We express our gratitude to the heads and staff of the offices of Rospotrebnadzor in the regions of the Russian Federation, Centers of Hygiene and Epidemiology in the regions of the Russian Federation, research and anti-plague institutions of Rospotrebnadzor, for the organization and participation in the collection of material for the study.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Toporkov A.V., Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Boroday N.V., Molchanova V.E., Bondareva O.S., Antonov A.S. Study of the circulation and properties of the West Nile virus in Russia in 2022. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(1):114–126.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-432>

EDN: <https://www.elibrary.ru/xvakzi>

Введение

Широкое территориальное распространение лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в России, ежегодная регистрация случаев заболевания, в том числе с возникновением эпидемических вспышек, выявление тяжёлых форм и летальных исходов определяют необходимость постоянного и системного

проведения эпидемиологического надзора за этой инфекцией [1, 2]. Однако наблюдаемые в последние годы существенные снижения объёмов и качества мониторинговых исследований за возбудителем ЛЗН в России затрудняют проведение объективного анализа проявлений ЛЗН и разработку прогноза развития эпидемиологической ситуации. Так, число

обследованных больных, имеющих сходные с ЛЗН симптомы, в 2020 и 2021 гг. сократилось в 5,7 и 4,2 раза относительно показателей 2019 г., а объёмы исследований зооэнтомологического материала — в 2,1 и 1,5 раза соответственно. В этот же период маркеры возбудителя ЛЗН выявлены практически учреждениями Роспотребнадзора только в 3 и 7 субъектах России [3].

С учетом вышеизложенного одной из ключевых задач Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН является проведение активного рекогносцировочного мониторинга за ЛЗН, позволяющего получить достоверные сведения об интенсивности эпизоотического и эпидемического процессов. Проведённые нами в 2020–2021 гг. исследования на фоне низкого уровня официально зарегистрированной заболеваемости ЛЗН в России (в 10 и 6 раз ниже среднееголетнего значения соответственно) подтвердили продолжающийся интенсивный контакт с возбудителем населения Республики Калмыкия, Крым, Адыгея, Краснодарского края, Волгоградской и Астраханской областей [3].

Остро стоит проблема установления ареала ЛЗН в России, что обосновывается подтверждением местных случаев заражения ВЗН только в 26 субъектах, в то время как на большей части территории страны (48 субъектов) получены лишь фрагментарные данные, свидетельствующие о наличии иммунной прослойки к вирусу Западного Нила (ВЗН) среди населения и/или выявления маркеров возбудителя в зооэнтомологическом материале. На территории 11 субъектов циркуляция ВЗН по состоянию на 2022 г. не подтверждена.

Актуальным направлением исследований остаётся изучение популяционной структуры и особенностей распространения различных генетических линий ВЗН в России. Известно, что на территории России подтверждена циркуляция ВЗН генотипов 1, 2 и 4 [1, 4]. Изучение структуры генома возбудителя ЛЗН, циркулирующего в начале 2000-х гг. на юге европейской части страны, юге Западной Сибири и Дальнего Востока, продемонстрировало доминирование ВЗН генотипа 1а [5–7]. В последующем на ряде территорий европейской части России показана циркуляция ВЗН двух эпидемически значимых генотипов — 1а и 2 с преобладанием последнего, а в южных регионах — генотипа 4 [4, 7]. В современный период ввиду снижения объёмов мониторинговых исследований за возбудителем ЛЗН имеются лишь ограниченные данные о циркуляции ВЗН генотипа 2. Вместе с тем обнаружение в 2021 г. ранее не встречавшегося в России геноварианта ВЗН генотипа 2 [3] определяет необходимость усиления системы мониторинга за возбудителем ЛЗН для получения информации о свойствах циркулирующих штаммов, оценки их влияния на клиническую картину забо-

левания и особенности проявлений эпидемического процесса, понимания вероятных путей заноса и распространения вируса.

Цель работы — получить объективные данные об интенсивности циркуляции ВЗН на отдельных территориях России и изучить генетическое разнообразие и свойства выделенных штаммов возбудителя.

Материалы и методы

Активный мониторинг за возбудителем ЛЗН в сезон 2022 г. проводился в 23 субъектах России силами Волгоградского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора (Волгоградский НИПЧИ) во взаимодействии со специалистами Центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, научно-исследовательских и противочумных учреждений Роспотребнадзора. Сбор кровососущих членистоногих, отлов мелких млекопитающих и птиц, подготовку проб к исследованию осуществляли в соответствии с СанПиН 3.3686-21, МУ 3.1.3.2600-10 и МР 3.1.0211-20. Членистоногих объединяли в пулы по видам, дате и месту сбора: комаров — от 2 до 30 экземпляров, клещей — от 1 до 7 особей.

Забор проб крови проведён в 11 субъектах РФ в июле–августе 2022 г. от лихорадящих пациентов, проходивших амбулаторное или стационарное лечение по поводу заболеваний, не связанных с ЛЗН (острые респираторные вирусные заболевания, COVID-19, соматические заболевания и др.). В Запорожской области в работе использованы образцы сыворотки крови доноров, полученные из Мелитопольского областного центра крови в октябре 2022 г. Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике ВНИПЧИ (протокол № 3 от 25.04.2022).

Лабораторные исследования проводили на базе ВНИПЧИ, за исключением материала из Запорожской области и Республики Крым, который исследован в лаборатории мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора. Всего исследовано 1547 проб клинического материала и 4564 пробы полевого материала (3181 проба комаров 28 видов, 1 проба кровососущих мошек 1 вида, 2 пробы мух-кровососок 1 вида, 1373 пробы иксодовых клещей 15 видов, 10 проб аргасовых клещей 1 вида, 283 пробы головного мозга птиц 29 видов, 325 проб органов мелких млекопитающих 14 видов).

Скрининг образцов биологического материала на наличие РНК ВЗН проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс WNV-FL» (Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора), типирование ВЗН — «Амплиген-WNV-генотип-1/2/4» (ВНИПЧИ).

При исследовании сывороток с целью детекции антител к ВЗН классов IgM и IgG использованы коммерческие наборы «ВектоНил-IgG», «ВектоНил-IgM» («Вектор-Бест»). В пробах, положительных на наличие антител класса IgG, определяли индекс avidности с помощью набора «ВектоНил-IgG-avidность» («Вектор-Бест»). В отношении образцов сывороток лиц, проживающих на эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту территориях, в случае выявления IgM и/или IgG к ВЗН выполняли парные количественные исследования сывороточных антител к ВЗН и вирусу клещевого энцефалита (ВКЭ) до титров. Определение антител к ВКЭ осуществляли с помощью наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgM» и «ВектоВКЭ-IgG» («Вектор-Бест»). В случаях существенного превышения концентрации сывороточных антител к ВЗН по сравнению с ВКЭ или отсутствия антител к ВКЭ принимали решение в пользу специфичности выявляемых антител к ВЗН.

В качестве источников информации о количестве зарегистрированных случаев заболевания ЛЗН использовали формы статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в Российской Федерации за 2009–2022 гг., об уровне иммунной прослойки к ВЗН среди населения обследованных территорий — отчётные данные, представленные Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации в референс-центр, и материалы научных публикаций.

Изоляцию вируса осуществляли согласно классическому протоколу заражением монослоя клеточной линии Vero супернатантом проб биологического материала, в которых обнаружена РНК ВЗН [8]. Для достижения достаточной инфекционной активности каждый изолят трёхкратно пассировали на культуре клеточной линии Vero. Изучение патогенных свойств проводили в отношении 22 штаммов ВЗН, выделенных в период с 2018 по 2022 г. из проб полевого материала и хранившихся в рабочей коллекции ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (табл. 1). С целью изучения патогенных свойств указанных штаммов беспородным белым мышам вводили внутримышечно по 100 мкл десятикратно раститрованного вируссодержащего материала. В течение 21 дня после заражения наблюдали за состоянием животных и фиксировали их гибель. ЛД₅₀ рассчитывали, используя формулу Кербера в модификации Ашмарина. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Манна–Уитни.

Выделение тотальной РНК из инактивированного фильтрованного супернатанта линии клеток Vero осуществляли с помощью набора «RNeasy Mini Kit, RNeasy Mini Spin Columns» («Qiagen»). Подготовку библиотек для секвенирования прово-

дили в соответствии с методикой, предложенной L.A. Moser и соавт. [9]. Секвенирование выполняли на платформе «Illumina MiSeq» («Illumina corp.») с помощью набора «MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycle)» («Illumina corp.»). Сборку последовательностей *de novo* и на референсный геном ВЗН (GenBank accs. NC_001563.2) осуществляли с помощью программных продуктов Cutadapt 2.9, Samtools 1.9, Bcftools 1.9, bwa 0.7.17-r1188 и SPAdes v3.15.1, объединённых в конвейеры при помощи собственных скриптов, реализованных на языке Python 3. Нуклеотидные последовательности полных геномов изолятов ВЗН с выявленным потенциальным сайтом гликолизирования в положении N1433 белка NS2B депонировали в международную базу данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) под регистрационными номерами OP345101, OP345085, OP345086, OP345087, OP345088, OP345089, OP345090, OP345091, OP345092, OP345093, OP345094, OP345098, OP345099, OP345100, OR159869, OQ214888, OR159871, OR159873, OQ214890, OR159872, OQ214891.

Результаты

При исследовании 1331 пробы сывороток крови от лихорадящих больных в 20 (1,5%) случаях обнаружены антитела класса IgM к ВЗН (табл. 2). На основании клинической картины заболевания и результатов лабораторного исследования всем пациентам, сыворотки крови которых содержали IgM-антитела к ВЗН, свидетельствующие об острой фазе инфекционного процесса, медицинскими специалистами выставлен диагноз ЛЗН. РНК ВЗН в исследуемых пробах не обнаружена.

В Карачаево-Черкесской Республике, Владимирской и Тверской областях местные случаи заболевания ЛЗН зарегистрированы впервые, что позволяет говорить об установленном расширении ареала этой инфекции.

Исследования, проведённые специалистами референс-центра, подтвердили инфицирование ВЗН человека в Тамбовской области (табл. 2), где первый местный случай ЛЗН выявлен специалистами медицинской организации в апреле 2022 г.

В остальных субъектах России заболеваемость была официально зарегистрирована ранее. Проявления ЛЗН носили вспышечный характер только на территории Липецкой области (2012 г. — 35 больных) с последующей регистрацией спорадических случаев в 2013 г. (4), 2015, 2017, 2021 гг. (по 1), 2016 г. (3), 2019 г. (6) [10]. В Ульяновской области до 2022 г. случаи ЛЗН выявлены в 2009 г. (1 больной), 2012 г. (4); в Белгородской — в 2012 г. (5), 2013 г. (2), 2014 г. (1); в Курской — в 2012 г. (1) и в 2019 г. (4); в Тульской — в 2021 г. (1); в Самарской — в 2012–2014 гг. (по 9), 2015 г. (4), 2016–2017 гг. (по 3), 2019 г. (2); в Запорожской — в 2009 г. (11), 2011 г.

Таблица 1. Штаммы ВЗН коллекции ВНИПЧИ, используемые в работе**Table 1.** West Nile virus strains from the collection of the Volgograd Anti-Plague Scientific Research Institute, used in the study

№ No.	Название штамма Strain name		Источник выделения Selection source	Место отлова переносчика/хозяина Location of vector/host
	Коллекция ВНИПЧИ Роспотребнадзора collection of the Volgograd Plague Control Research Institute	Государственная коллекция возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора Department of collection of microorganisms, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR		
1	Volg601/18	V-959	<i>Culex modestus</i>	Волгоградская область Volgograd Region
2	Volg696/18	V-960	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
3	Volg723/18	V-961	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
4	Volg774/18	–	<i>Culex spp.</i>	Волгоградская область Volgograd Region
5	Volg829/18	V-962	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
6	Volg840/21	V-1203	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
7	Voronezh796/21	–	<i>Culex pipiens</i>	Воронежская область Voronezh Region
8	Volg701/21	V-1202	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
9	Astrahan962/21	–	<i>Culex modestus</i>	Астраханская область Astrakhan Region
10	Rostov 362/21	–	<i>Corvus frugilegus</i>	Ростовская область Rostov Region
11	Krim221/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Республика Крым Republic of Crimea
12	Krim233/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Республика Крым Republic of Crimea
13	Krim245/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Республика Крым Republic of Crimea
14	Klmk499/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Республика Калмыкия Republic of Kalmykia
15	Klmk 502/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Республика Калмыкия Republic of Kalmykia
16	Volg 565/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
17	KCHR755/22	–	<i>Culex modestus</i>	Карачаево-Черкесская Республика Karachay-Cherkess Republic
18	Volg 912/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Волгоградская область Volgograd Region
19	Volg 911/22	V-1388	<i>Culex modestus</i>	Волгоградская область Volgograd Region
20	Stavropol1516/22	–	<i>Culex pipiens</i>	Ставропольский край Stavropol Territory
21	Stavropol1451/22	V-1389	<i>Culex pipiens</i>	Ставропольский край Stavropol Territory
22	Astrahan1031 /22	–	<i>Culex pipiens</i>	Астраханская область Astrakhan Region

Таблица 2. Суммарные результаты обследования населения отдельных территорий европейской части России на наличие антител к ВЗН

Table 2. The total results of serosurvey for the antibodies to WNV in certain territories of European part of Russia

№ No.	Название субъекта Name of the constituent entity	Количество проб Number of samples	Выявлены антитела к ВЗН Detection of antibodies to WNV					
			IgM		IgG		низкоавидные IgG low avidity IgG	
			n	%	n	%	n	%
1	Карачаево-Черкесская Республика Karachay-Cherkess Republic	105	1	0,9	6	5,7	0	0
2	Тульская область Tula Region	104	0	0	16	15,4	4	3,8
3	Ульяновская область Ulyanovsk Region	146	2	1,4	5	3,4	2	1,4
4	Тверская область Tver Region	100	7	7,0	3	3,0	1	1
5	Самарская область Samara Region	101	0	0	6	6,0	1	1
6	Тамбовская область Tambov Region	108	4	3,7	1	0,9	0	0
7	Курская область Kursk Region	117	2	1,7	13	11,1	6	5,1
8	Ставропольский край Stavropol Territory	239	3	1,3	12	5,0	5	2,1
9	Владимирская область Vladimir Region	54	1	1,8	0	0	0	0
10	Белгородская область Belgorod Region	154	0	0	13	8,4	1	0,6
11	Липецкая область Lipetsk Region	103	0	0	5	4,9	1	1
12	Запорожская область Zaporozhye Region	216	–	–	53	24,5	23	10,6
Итого Total		1547	20	1,5	133	8,6	44	2,8

Примечание. Прочерк — исследования не проводились.
Note. The dash means no studies have been conducted.

(5), 2012 г. (10), 2018 г. (8), 2019 г. (4); в Ставропольском крае — в 2012 г. (2), 2018 г. (2) и 2019 г. (4) [11].

Наличие иммунной прослойки к ВЗН установлено в среднем у 8,6% населения, проживающего на территории 11 субъектов (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о продолжающемся контакте населения с возбудителем ЛЗН и необходимости усиления мероприятий эпидемиологического надзора.

При сопоставлении результатов наших исследований со средним уровнем иммунной прослойки к ВЗН среди населения обследованных субъектов за 2009–2022 гг. установлены сходные значения серопревалентности в Ставропольском крае (5,9%), Белгородской (8,1%), Липецкой (3%), Ульяновской (2,9%), Самарской (3,9%) областях. Обращает на себя внимание высокий процент положительных находок на наличие антител к ВЗН класса IgG в Тульской (15,4%) и Курской (11,1%) областях, на территории которых выявлены единичные больные ЛЗН. Что касается Тверской области, то наличие антител

к ВЗН у местного населения при плановом мониторинге выявлено здесь однократно в 2014 г. (1,3%), в Тамбовской — в 2012 г. (2,6%), во Владимирской — 2016 г. (3%). Официальные отчетные данные по иммунной прослойке к ВЗН среди населения Карачаево-Черкесской Республики и Запорожской области отсутствовали.

В пробах, положительных на наличие антител класса IgG, определена авидность с целью установления давности контакта с возбудителем. Установлено, что 44 пробы сыворотки крови от населения 9 субъектов содержали низкоавидные IgG-антитела, свидетельствующие об инфицировании ВЗН в предшествующие 2–3 мес.

Циркуляция ВЗН в эпизоотическом цикле в 2022 г. на юге европейской части России подтверждена на всех обследованных территориях, за исключением Республики Адыгея (табл. 3). Высокий удельный вес положительных находок среди кровососущих комаров установлен в Ставропольском крае (8,2%), Волгоградской области (5,9%) и

Таблица 3. Объёмы и результаты лабораторных исследований на наличие РНК ВЗН энтомологического материала
Table 3. The volumes and results of laboratory tests for WNV RNA presence in entomological material

№ No.	Название субъекта Name of the constituent entity	Комары Mosquitoes			Клещи Ticks		
		коли- чество пулов number of pools	количество положительных пулов, % number of positive pools, %	структура положительных находок structure of positive pools	коли- чество пулов number of pools	количество положительных пулов, % number of positive pools, %	структура положитель- ных находок structure of positive pools
1	Волгоградская область Volgograd Region	474	28 (5,9)	12 — <i>Aedes vexans</i> , 10 — <i>Ae. caspius</i> , 1 — <i>Anopheles hyrcanus</i> , 2 — <i>Culex modestus</i> , 3 — <i>Cx. pipiens</i>	372	1 (0,3)	1 — <i>Hyalomma marginatum</i>
2	Астраханская область Astrakhan Region	338	1 (0,3)	1 — <i>Cx. pipiens</i>	124	4 (3,2)	4 — <i>H. marginatum</i>
3	Ростовская область Rostov Region	27	1 (3,7)	1 — <i>Ae. caspius</i>	21	1 (4,8)	1 — <i>Ixodes ricinus</i>
4	Запорожская область Zaporozhye Region	203	6 (3)	6 — <i>Cx. pipiens</i>	192	0	—
5	Республика Крым Republic of Crimea	693	14 (2)	9 — <i>Ae. caspius</i> , 4 — <i>Cx. modestus</i> , 1 — <i>Cx. pipiens</i>	—	—	—
6	Республика Калмыкия Republic of Kalmykia	174	4 (2,3)	4 — <i>Cx. pipiens</i>	95	0	—
7	Республика Адыгея Republic of Adygea	91	0	—	57	0	—
8	Карачаево-Черкесская Республика Karachay-Cherkess Republic	78	3 (3,8)	2 — <i>Cx. modestus</i> , 1 — <i>Cx. pipiens</i>	7	0	—
9	Ставропольский край Stavropol Territory	110	9 (8,2)	9 — <i>Cx. pipiens</i>	99	0	—
10	Белгородская область Belgorod Region	18	0	—	0	0	—
11	Курская область Kursk Region	166	0	—	59	0	—
12	Липецкая область Lipetsk Region	315	0	—	61	0	—
13	Тамбовская область Tambov Region	20	0	—	11	0	—
14	Тверская область Tver Region	11	0	—	23	0	—
15	Тульская область Tula Region	142	1 (0,7)	1 — <i>Coquillettidia richiardii</i>	5	0	—
16	Владимирская область Vladimir Region	40	0	—	57	0	—
17	Самарская область Samara Region	171	0	—	36	0	—
18	Ульяновская область Ulyanovsk Region	110	0	—	0	0	—
19	Кемеровская область Kemerovo Region	0	0	—	16	0	—
20	Новосибирская область Novosibirsk Region	0	0	—	36	0	—
21	Омская область Omsk region	0	0	—	12	0	—
22	Ханты-Мансийский АО Khanty-Mansi Autonomous District	0	0	—	28	0	—
23	Тюменская область Tyumen region	0	0	—	72	0	—
Итого Total		3181	67	—	1383	6	—

Карачаево-Черкесской Республике (3,8%), что свидетельствовало о наличии здесь значительного эпидемиологического риска для населения.

В наиболее старом очаге ЛЗН — Астраханской области — при низком проценте ПЦР-положительных проб кровососущих комаров (0,3%) установлен высокий удельный вес положительных находок (3,2%) в пробах иксодовых клещей. Выявляемость ВЗН среди иксодовых клещей вида *H. marginatum*, снятых с крупного рогатого скота, составила 16% (4 из 25 проб).

В Волгоградской области выявляемость маркеров ВЗН в комарах в 2022 г. была сопоставима с показателями предыдущих лет. Однако, впервые за многолетний период исследований Референс-центра, 78,6% всех положительных находок в Волгоградской области пришлось на комаров видов *Ae. vexans* и *Ae. caspius*, собранных в конце июня, что подтверждало активный эпизоотический процесс и рассматривалось нами как предвестник возможного эпидемиологического неблагополучия.

Выявляемость маркеров ВЗН кровососущих комаров в 2022 г. в Республике Калмыкия составила 2,3%. При практически ежегодно отмечаемых на этой территории признаках активности эпизоотического процесса официально заболеваемость здесь не регистрируется с 2013 г. Малоизученным остаётся видовой состав комаров — потенциальных переносчиков ВЗН в Республике Калмыкия. В 2022 г. по результатам энтомологического обследования специалистами Референс-центра удалось дополнить видовой состав комаров видами *Anopheles algeriensis* и *Coq. richardii*.

В Республике Адыгея в 2022 г. заражённость ВЗН носителей и переносчиков не установлена. В отличие от других субъектов юга России, в которых высокая численность комаров вида *Cx. pipiens* поддерживается за счёт наличия на приусадебных участках запасов воды в искусственных ёмкостях, в Адыгее в связи с высоким уровнем увлажнения подобные места выплода практически отсутствуют. Здесь также не выявлен один из компетентных переносчиков ВЗН — *Cx. modestus*. Однако в Республике Адыгея нами обнаружен комар вида *Ae. koreicus* (г. Майкоп), присутствие которого на этой территории не описано в доступных публикациях.

В Республике Крым доля положительных на наличие РНК ВЗН проб комаров составила 2%, в урбанизированных биотопах данный показатель был существенно выше и достиг 4,1%. Большинство положительных находок пришлось на комаров вида *Ae. caspius*, который являлся общим эудоминантным видом в урбанизированных и загородных биотопах. Все находки в 2022 г. обнаружены в пробах переносчиков, отловленных на севере Крыма (Красноперекопский район), где ранее циркуляция ВЗН не была установлена.

Из субъектов центра европейской части России и Западной Сибири маркеры возбудителя ЛЗН в зооэнтомологическом материале обнаружены только на территории Тульской области (табл. 3).

Суммируя данные исследований полевого материала молекулярно-генетическим методом, отметим, что в пробах переносчиков РНК ВЗН выявлена преимущественно в низкой концентрации. В 43 (79,6%) из 54 проб значение порогового цикла (threshold cycle, Ct) превышало 28 и свидетельствовало о преобладании среди инфицированных комаров и клещей относительно низкого уровня вирусной нагрузки. Высокая концентрация РНК ВЗН (значения Ct: 8,98; 10,2; 14,55; 15,55; 15,77) выявлена только в 5 пробах переносчиков (4 пробах *Cx. pipiens* и 1 пробе *H. marginatum*).

По результатам типирования положительных проб установлена принадлежность выделенных фрагментов РНК ВЗН к генотипу 2 в 27 (50%) из 54 образцов: в пробах комаров *Cx. pipiens*, отловленных в Республике Калмыкия, Астраханской области и Ставропольском крае; комаров *Cx. pipiens*, *An. hyrcanus*, *Cx. modestus*, *Ae. vexans*, *Ae. caspius* — в Волгоградской области; комаров *Ae. caspius* и клещей *I. ricinus* — в Ростовской области. Генотипы 1 и 4 ВЗН в пробах не установлены.

Проведение генотипирования проб, в которых концентрация РНК ВЗН была ниже предела чувствительности набора реагентов «Амплиген-WNV-генотип-1/2/4» (1×10^4 копий/мл), было затруднено. При исследовании проб со значением Ct ≥ 30 определить генотип удалось в 6 (21,4%) из 28 проб, Ct = 28–30 — 66,7%, в то время как со значениями Ct < 28 — в 100% исследуемых проб.

Учитывая низкую концентрацию возбудителя в нативном материале, с целью получения изолятов ВЗН и изучения их биологических и молекулярно-генетических свойств проводили накопленные вируса на культуре клеток. В 2022 г. получено 12 изолятов ВЗН: 3 — из Республики Крым, 2 — из Республики Калмыкия, 1 — из Карачаево-Черкесской Республики, 3 — из Волгоградской области, 1 — из Астраханской области, 2 — из Ставропольского края.

Для штаммов ВЗН, выделенных в 2022 г., нами установлены особенности течения инфекции у беспородных белых мышей с определением инкубационного периода заболевания и рассчитана ЛД₅₀. В результате заражения лабораторных мышей, независимо от используемого штамма ВЗН, выделенного в 2022 г., у животных развивалась только гриппоподобная форма заболевания и отмечались следующие симптомы: мокрый мех, адинамия, озноб, сонливость. В отличие от этого у 20% мышей, заражённых штаммами 2018 и 2021 гг., заболевание протекало с признаками поражения нервной системы в виде монопарезов и серозного менингита [12].

Гибель животных в среднем наблюдалась с 10-х по 14-е сутки, что при сравнении с данными, полученными для штаммов, выделенных в 2018 г. и 2021 г. (3–14-е и 6–14-е сутки соответственно), предполагает тенденцию к увеличению сроков инкубационного периода. Среднее значение ЛД₅₀ штаммов 2022 г. составило 10⁴–10⁵ БОЕ, в то время как ЛД₅₀ штаммов 2018 и 2021 гг. — 10³–10⁴ БОЕ. Летальность для штаммов 2022 г. в среднем была равна 22% и имела статистически достоверные отличия от аналогичных показателей для штаммов 2018 (60%) и 2021 гг. (40%) при уровне значимости $p = 0,05$. Однако при заражении штаммами из Астраханской области и Ставропольского края летальность составила 57% и была сопоставима с ранее изолированными штаммами.

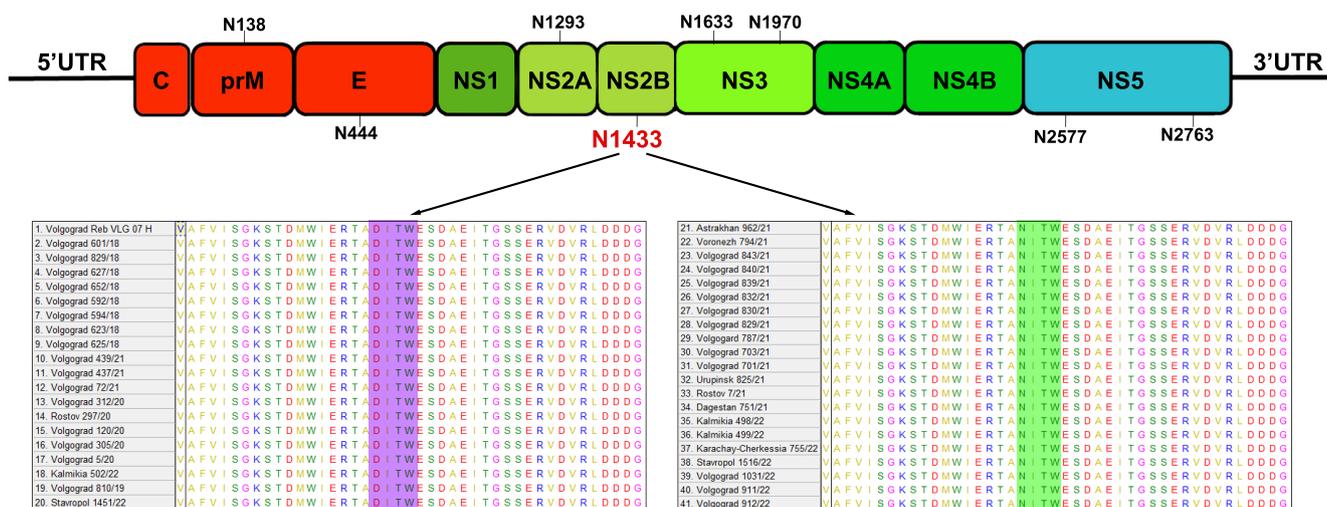
Сравнительный анализ полногеномных последовательностей 12 изолятов ВЗН показал, что 2 из них, выделенные на территории Республики Калмыкия и в Ставропольском крае в 2022 г., формируют новую обособленную кладу. Топология филогенетического дерева указывает на возможное африканское происхождение ВЗН. Вероятно, на территорию России данный геновариант был занесён перелётными птицами. Оставшиеся 10 изолятов принадлежали к кладе вируса, сформированной в 2021 г. изолятами, выделенными в Волгоградской, Астраханской, Ростовской, Воронежской областях и Республике Дагестан. Примечательно, что в 2022 г. на территории Республики Калмыкия и Ставропольского края выявлена одновременная циркуляция изолятов как клады ВЗН генотипа 2,

сформированной в 2021 г., так и изолятов нового геноварианта.

Проанализированы 44 аминокислотные полные кодирующие последовательности изолятов ВЗН, выделенных в 2018–2022 гг. в России, и проведён сравнительный анализ с референсом генотипа 2 NC_001563, а также с изолятами, циркулирующими на территории Европы. Нами выявлен ряд сайтов гликозилирования, являющихся общими для изолятов ВЗН, циркулирующих на территории России и стран европейского региона. Известно, что сайты гликозилирования играют ключевую роль во взаимодействии вируса с клетками хозяина и являются так называемыми горячими точками в адаптационной изменчивости ВЗН. Также впервые выявлен потенциальный сайт гликозилирования в положении N1433 белка NS2B у ряда изолятов, выделенных в 2021 и 2022 гг. в России (**рисунок**). Интересен тот факт, что данная мутация отсутствует как у референса генотипа 2, так и у изолятов из стран Европы. Проведённое исследование не показало территориальной приуроченности изолятов, обладающих данным сайтом гликозилирования, к конкретным территориям либо к известным на сегодняшний день геновариантам генотипа 2 ВЗН.

Обсуждение

Лабораторно подтверждённые случаи ЛЗН в Тверской и Владимирской областях являются первыми доказательствами местной передачи ВЗН на этих территориях. Нельзя исключать, что случаи заболевания среди населения здесь могли происходить



Результаты анализа сайтов гликозилирования геновариантов ВЗН, циркулирующих на территории России.

Координатами на карте генома ВЗН обозначены сайты гликозилирования, выявленные при помощи NetNGlyc-1.0. Зелёным цветом обозначен сайт гликозилирования у ряда изолятов, выявленных в период с 2021 по 2022 г. Фиолетовым цветом выделена последовательность белка NS2B изолятов, у которых данный сайт гликозилирования отсутствовал.

Results of the analysis of glycosylation sites of WNV genetic variants circulating in Russia.

Glycosylation sites identified using NetNGlyc-1.0 are indicated by coordinates on the map of the WNV genome. The green color indicates the glycosylation site in a number of isolates identified in the period from 2021 to 2022. The NS2B protein sequence of isolates lacking this glycosylation site is highlighted in purple.

в более ранний период, но не были диагностированы медицинскими специалистами, поскольку в этих субъектах на наличие маркеров ЛЗН обследованы единичные больные. В пользу нашего предположения могут свидетельствовать данные по обнаружению иммунной прослойки к ВЗН среди жителей Владимирской области (3% в 2015 г.), а также подтверждение в 2021 г. местных случаев в Московской области [13]. В Тверской области по результатам предыдущих сероэпидемиологических исследований (2013 г.) получены отрицательные результаты [14].

На территории Карачаево-Черкесской Республики до 2022 г. циркуляция ВЗН не установлена, что, вероятно, обусловлено отсутствием комплексного мониторинга за возбудителем ЛЗН. При этом заболеваемость, в том числе вспышечного характера, подтверждена на сопредельных территориях — в Краснодарском и Ставропольском краях. Суммируя наши данные по выявлению местного случая заболевания, заражённым ВЗН переносчикам и иммунной прослойке среди населения, можно доказать эндемичность территории Карачаево-Черкесской Республики по ЛЗН.

Отрицательные результаты на наличие РНК ВЗН проб клинического материала, по всей видимости, связаны со взятием материала на исследование в поздние сроки от начала заболевания, когда концентрация вируса в крови резко снижается. По данным, представленным Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации в Референс-центр, средний срок взятия материала на исследование от начала появления клинических симптомов составил 6 дней, максимальный — 14 дней. О непродолжительной вирусемии можно сделать вывод исходя из течения заболевания, которое у 85% пациентов протекало в лёгкой форме и характеризовалось кратковременной лихорадкой.

Значения серопревалентности к ВЗН, полученные Референс-центром в Ульяновской, Липецкой, Белгородской, Самарской областях, Ставропольском крае, в целом сопоставимы с показателями, выявленными при плановом серологическом мониторинге. В Курской области уровень иммунной прослойки к ВЗН был существенно выше показателей, установленных в 2017–2021 гг. при проведении серологического мониторинга учреждениями Роспотребнадзора (0,5–1,3%). Аналогичная закономерность отмечена и для Тульской области, где при обследованиях выборочных групп здорового населения в отдельные годы получены отрицательные результаты. Однако, по данным научных публикаций, здесь подтверждена этиологическая роль ВЗН у 4 лихорадящих больных, госпитализированных в медицинские организации Тулы ещё летом 2012 г., а антитела класса IgG выявлены у 1,5% обследованных [15]. Таким образом, установленная нами серопревалентность населения этих территорий может

характеризовать высокую степень и частоту его контакта с возбудителем ЛЗН в сезон 2022 г.

Интересно отметить, что уровень популяционного иммунитета к ВЗН в Запорожской области был сопоставим с показателями, полученными на территориях России с высокой эпидемической опасностью, такими как Волгоградская, Ростовская, Астраханская области. До настоящего времени данные о распространении ЛЗН в Запорожской области были ограничены. В доступных источниках имеются сообщения о выявлении спорадических случаев заболеваний ЛЗН, а сведения о состоянии иммунной прослойки населения к возбудителю ЛЗН в современный период отсутствуют.

Интенсивность эпизоотического процесса практически на всех обследованных территориях юга европейской части России не соответствовала количеству официально зарегистрированных случаев заболевания, которое не превышало 1–3 больных ЛЗН в субъекте. По всей видимости, данное наблюдение может быть связано со снижением эффективности выявления больных ЛЗН специалистами медицинских организаций. Совокупное количество обследованных в 2022 г. больных с симптомами, сходными с ЛЗН, на территориях юга европейской части России составило 542 человека, что в 2,8 раза ниже среднееголетнего значения (1516 человек). При этом в отдельных субъектах юга России (Ставропольский край, Карачаево-Черкесская Республика) в 2022 г. активное выявление больных ЛЗН медицинскими специалистами не осуществлялось.

Высокая доля ПЦР-положительных проб среди иксодовых клещей *H. marginatum* на территории Астраханской области в нашем исследовании и данные научных публикаций о заражённости ВЗН 2,6% *H. marginatum*, собранных с крупного рогатого скота в средней дельте Волги, а также выявления РНК ВЗН у голодных имаго, собранных в начале весны, позволяют сделать вывод об их значимом участии в эпизоотическом процессе и сохранении возбудителя в межэпизоотический период [16]. Роль данного вида клещей в эпидемическом процессе не изучена, и это представляется актуальным направлением научных исследований.

Высокий удельный вес положительных находок среди комаров рода *Aedes* свидетельствует об их важной роли не только в течении эпизоотического процесса ЛЗН, но и, возможно, инфицировании ВЗН человека. Однако для понимания эпидемиологической значимости комаров рода *Aedes* или другого рода необходимы комплексные исследования, направленные на изучение их векторной компетентности, а также взаимосвязи между динамикой численности переносчиков и заболеваемостью населения в сезон передачи ВЗН.

Факт обнаружения азиатского вида *Ae. koreicus* в Адыгее укладывается в общую тенденцию рас-

ширения ареала этого вида переносчика, наблюдаемую в последние годы на юге России. Присутствие *Ae. koreicus* установлено в 2013 и 2018 гг. в Краснодарском крае, в 2018 г. — в Республике Крым [17, 18]. Компетентность данного вида в отношении ВЗН в России не исследована.

Низкая выявляемость маркеров ВЗН при исследовании зооэнтомологического материала, собранного в центральной части России, вероятно, могла быть связана с комплексом факторов, влияющих на его объёмы и качество (неблагоприятные климатические условия во время сбора материала, выбор биотопов, условия сбора, хранения и транспортировки материала и др.). Вместе с тем об интенсивной циркуляции ВЗН в центральной части России и контакте с ним населения свидетельствовали результаты обследования лихорадящих пациентов, представленные выше.

Отсутствие положительных находок в пробах полевого материала из Западной Сибири также связано с недостаточным для выявления маркеров ВЗН объёмом, который в среднем составил 33 пробы из одного субъекта. В 2021 г. при существенно большем объёме исследованного материала (135 проб из Омской области) РНК ВЗН выявлена в 1 пробе комаров *Coq. richiardii* и 2 пробах клещей *I. persulcatus*. Данные о циркуляции ВЗН в Западной Сибири ограничены Омской, Новосибирской, Томской областями, Красноярским и Алтайским краями [19, 20]. Для объективной оценки ситуации по ЛЗН в Западной Сибири необходимо проведение прицельных исследований, которые позволят получить современные сведения о фауне потенциальных участников энзоотического цикла ВЗН и активности очагов ЛЗН на этих территориях.

В результате исследования патогенности штаммов ВЗН, выделенных в 2022 г., при заражении ими белых мышей для большинства установлено увеличение сроков инкубационного периода заболевания и снижение летальности при сравнении с данными, полученными для штаммов, выделенных в другие годы. Штаммы из Астраханской области и Ставропольского края являлись исключением, были высоковирулентными для лабораторных животных и характеризовались летальностью на уровне 57%. В аналогичных исследованиях, проводившихся со штаммами, выделенными в Австралии, США, Канаде и Европе, также отмечался факт циркуляции штаммов ВЗН, значительно различающихся по вирулентности и нейтроинвазивности [21, 22].

Гетерогенность штаммов ВЗН по признаку патогенности обусловлена их генетическим разнообразием и является следствием адаптации к смене хозяев и переносчиков в энзоотическом цикле, при котором вирус реплицируется в клетках филогенетически отдалённых видов.

Выводы

1. В ходе комплексных мониторинговых исследований установлена новая северная граница ареала ЛЗН, которая по состоянию на 2022 г. проходит на территории Тверской области.

2. Данные сероэпидемиологических исследований, в том числе с обнаружением низкоавидных IgG-антител, подтверждают достаточно интенсивный, но не диагностированный контакт населения европейской части России с возбудителем ЛЗН.

3. В южном регионе европейской части России преимущественно циркулирует ВЗН 2 генотипа, относящийся как минимум к 2 кладам, сформированным в 2021 и 2022 гг.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Онищенко Г.Г., ред. *Сборник материалов по вспышке лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2010 году*. Волгоград; 2011. Onishchenko G.G., ed. *Collection of Materials on the Outbreak of West Nile Fever in the Russian Federation in 2010*. Volgograd; 2011. EDN: <https://elibrary.ru/zcvbxc>
2. Городин В.Н., Нежурин А.В., Жукова Л.И. Современные аспекты лихорадки Западного Нила. *Инфекционные болезни*. 2023;21(1):140–7. Gorodin V.N., Nezhurin A.V., Zhukova L.I. Current aspects of West Nile fever. *Infect. Dis.* 2023;21(1):140–7. DOI: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2023-1-140-147>
3. Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н. и др. Лихорадка Западного Нила: результаты мониторинга за возбудителем в 2021 г. в Российской Федерации, прогноз заболеваемости на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022;(1):43–53. Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., et al. West Nile fever: results of monitoring over the causative agent in the Russian Federation in 2021, the incidence forecast for 2022. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022;(1):43–53. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-43-53>
4. Батуринов А.А., Ткаченко Г.А., Леденева М.Л. и др. Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Западного Нила, циркулировавших на территории европейской части России в 2010–2019 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(3):308–18. Baturin A.A., Tkachenko G.A., Ledeneva M.L., et al. Molecular genetic analysis of west Nile virus variants circulating in European Russia between 2010 and 2019. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(3):308–18. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-85> EDN: <https://elibrary.ru/mkwcdk>
5. Кононова Ю.В., Терновой В.А., Щелканов М.Ю. и др. Генотипирование вируса Западного Нила в популяциях диких птиц наземного и древесно-кустарникового комплексов на территории Барабинской лесостепи и Кулундинской степи (2003–2004 гг.). *Вопросы вирусологии*. 2006;51(4):19–23. Kononova Yu.V., Ternovoy V.A., Shchelkanov M.Yu., et al. West Nile virus Geno-typing among wild birds belonging to ground and tree-brush bird populations on the territories of the Baraba forest-steppe and Kulunda steppe (2003–2004). *Problems of Virology*. 2006;51(4):19–23. EDN: <https://elibrary.ru/gzqzev>
6. Терновой В.А., Протопопова Е.В., Сурмач С.Г. и др. Генотипирование вируса Западного Нила, выявленного у птиц на юге Приморского края в течение 2003–2004 гг. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2006;(4):30–5. Ternovoy V.A., Protopopova E.V., Surmach S.G., et al. Geno-

- typing of the West Nile virus detected in birds in the south of Primorsky Krai during 2003-2004. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2006;(4):30–5.
EDN: <https://elibrary.ru/hvtrgt>
7. Платонов А.Е., Карань Л.С., Шопенская Т.А., и др. Генотипирование штаммов вируса лихорадки Западного Нила, циркулирующих на юге России, как метод эпидемиологического расследования: принципы и результаты. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011;88(2):9–37. Platonov A.E., Karan' L.S., Shopenskaya T.A., et al. Genotyping of west Nile fever virus strains circulating in southern Russia as an epidemiological investigation method: principles and results. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011;88(2):9–37. EDN: <https://elibrary.ru/rsyomj>
 8. Colpitts T.M., ed. *West Nile Virus. Methods and Protocols*. New York;2016.
 9. Moser L.A., Ramirez-Carvajal L., Puri V., et al. A universal next-generation sequencing protocol to generate noninfectious barcoded cDNA libraries from high-containment RNA viruses. *mSystems*. 2016;1(3):e00039-15.
DOI: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00039-15>.
 10. Ходякова И.А., Смольянинов Д.И., Шукина И.А. и др. О результатах мониторинга за лихорадкой Западного Нила на территории Липецкой области. В кн.: Куличенко А.Н., ред. *Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ставрополь;2019:80–2. Khodyakova I.A., Smol'yaninov D.I., Shchukina I.A., et al. On the results of monitoring of West Nile fever in the Lipetsk region. In: Kulichenko A.N., ed. *Current Problems of Diseases Common to Humans and Animals: Materials of the III All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation*. Stavropol';2019:80–2.
 11. Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Таран Т.В. и др. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Лихорадка Западного Нила. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020;(1):109–14. Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Taran T.V., et al. Natural Focal Viral Fevers in the South of European Part of Russia. West Nile Fever. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020;(1):109–14.
DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-109-114>
EDN: <https://elibrary.ru/ojjaet>
 12. Гусев Е.А., Герасимова А.Д., Мачнева А.Ю. и др. Характеристика патогенных свойств штаммов вируса Западного Нила, выделенных на территории европейской части России в 2018–2021 годах. В кн.: *Актуальные вопросы профилактической медицины и санитарно-эпидемиологического благополучия населения: факторы, технологии, управление и оценка рисков. Сборник научных трудов. Специальный выпуск: по материалам межрегиональной научно-практической конференции*. Нижний Новгород;2022:349–52. Gusev E.A., Gerasimova A.D., Machneva A.Yu., et al. Characteristics of pathogenic properties of West Nile virus strains isolated in the European part of Russia in 2018–2021. In: *Topical Issues of Preventive Medicine and Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population: Factors, Technologies, Management and Risk Assessment. Collection of Scientific Papers. Special Issue: Based on the Materials of the Interregional Scientific and Practical Conference*. Nizhny Novgorod;2022:349–52. EDN: <https://elibrary.ru/qyibeo>
 13. Климова Е.А., Кареткина Г.Н., Шакарян А.К. и др. Лихорадка Западного Нила на территории Московской агломерации. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2021;10(4):13–21. Klimova E.A., Karetkina G.N., Shakaryan A.K., et al. West Nile fever on the territory of the Moscow agglomeration. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2021;10(4):13–21.
DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-4-13-21>
EDN: <https://elibrary.ru/ilxgax>
 14. Козлова А.А., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф. и др. Изучение ареала вируса Западного Нила на территории европейской части России; результаты сероэпидемиологических исследований. Сообщение 2: Центральный, Приволжский и Северо-Западный федеральные округа. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017;22(2):52–7. Kozlova A.A., Butenko A.M., Larichev V.F., et al. The study of the area of distribution of west Nile virus in the territory of the European part of Russia; the results of seroepidemiological research. Report 1: Astrakhan region, Krasnodar region, Stavropol region, Saratov region. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2017;22(2):52–7. DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-2-52-57>
EDN: <https://elibrary.ru/ykuwj>
 15. Бутенко А.М., Козлова А.А., Ларичев В.Ф. и др. Лихорадка Западного Нила в Тульской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2014;19(2):20–5. Butenko A.M., Kozlova A.A., Larichev V.F., et al. West Nile fever in the Tula region, Russian Federation. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2014;19(2):20–5. EDN: <https://elibrary.ru/sdfmfb>
 16. Львов Д.К., Ковтунов А.И., Яшкулов К.Б. и др. Особенности циркуляции вируса Западного Нила (Flaviviridae, Flavivirus) и некоторых других арбовирусов в экосистемах дельты Волги, Волго-Ахтубинской поймы и сопредельных аридных ландшафтов (2000–2002). *Вопросы вирусологии*. 2004;49(3):45–51. L'vov D.K., Kovtunov A.I., Yashkulov K.B., et al. The specificity of circulation of west Nile virus (Flaviviridae, Flavivirus) and of some other arboviruses in the ecosystems of Volga delta, Volga-Akhtuba flood-lands and adjoining arid regions (2000–2002). *Problems of Virology*. 2004;49(3):45–51. EDN: <https://elibrary.ru/oiwqlx>
 17. Коваленко И.С., Тихонов С.Н. Обнаружение Aedes Koreicus (Edwards, 1917) (Diptera, Culicidae) на территории Крымского полуострова. *Паразитология*. 2019;53(2):129–35. Kovalenko I.S., Tikhonov S.N. Recording of Aedes Koreicus (Edwards, 1917) (Diptera, Culicidae) in the territory of Crimea. *Parasitology*. 2019;53(2):129–35.
DOI: <https://doi.org/10.1134/S0031184719020042>
EDN: <https://elibrary.ru/xcjnfn>
 18. Федорова М.В., Швец О.Г., Патраман И.В. и др. Завозные виды комаров на Черноморском побережье Кавказа: современные ареалы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2019;(1):48–55. Fedorova M.V., Shvets O.G., Patraman I.V., et al. Invasive mosquito species of the Black sea coast of the Caucasus: current ranges. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2019;(1):47–55.
DOI: <https://doi.org/10.33092/0025-8326mp2019.1.47-55>
EDN: <https://elibrary.ru/xlppdy>
 19. Москвитина Н.С., Романенко В.Н., Терновой В.А. и др. Обнаружение вируса Западного Нила и его генетическое типирование у иксодовых клещей (Parasitiformes: Ixodidae) в городе Томске и его пригородах. *Паразитология*. 2008;42(3):210–25. Moskvitina N.S., Romanenko V.N., Ternovoy V.A., et al. Detection of the West Nile virus and its genetic typing in ixodid ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Tomsk city and its suburbs. *Parasitology*. 2008;42(3):210–25. EDN: <https://elibrary.ru/jxfkmz>
 20. Якименко В.В., Рудакова С.А., Василенко А.Г. *Лихорадка Западного Нила в Западной Сибири: информационное письмо*. Омск;2020. Yakimenko V.V., Rudakova S.A., Vasilenko A.G. *West Nile fever in Western Siberia: an Information Letter*. Omsk;2020. EDN: <https://elibrary.ru/eqcghz>
 21. Saiz J.C., Martín-Acebes M.A., Blázquez A.B., et al. Pathogenicity and virulence of West Nile virus revisited eight decades after its first isolation. *Virulence*. 2021;12(1):1145–73.
DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1908740>
 22. Schwartz G., Farnoushi Y., Berkowitz A., et al. Molecular characterization of the re-emerging West Nile virus in avian species and equids in Israel, 2018, and pathological description of the disease. *Parasit. Vectors*. 2020;13(1):528.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04399-2>

Информация об авторах

Топорков Андрей Владимирович — д.м.н., доцент, директор Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3449-4657>

Путинцева Елена Викторовна — к.м.н., в.н.с. лаб. эпидемиологического анализа и эпизоотологического мониторинга Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9368-6165>

Удовиченко Светлана Константиновна^{ORCID} — к.м.н., в.н.с. лаб. эпидемиологического анализа и эпизоотологического мониторинга Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, vari2@sprint-v.com.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8682-1536>

Бородай Наталья Владимировна — с.н.с. лаб. эпидемиологического анализа и эпизоотологического мониторинга Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2076-5276>

Молчанова Елена Владимировна — к.б.н., с.н.с. лаб. арбовирусных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3722-8159>

Бондарева Ольга Сергеевна — к.м.н., с.н.с. лаб. генодиагностики особо опасных инфекций Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5690-6686>

Антонов Александр Сергеевич — н.с. лаборатории биоинформационного анализа Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9342-7211>

Участие авторов: *Топорков А.В.* — концепция и дизайн исследования; *Путинцева Е.В.*, *Удовиченко С.К.* — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка данных, организация сбора клинического материала, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора, написание текста рукописи; *Бородай Н.В.* — сбор полевого материала, обработка данных; *Молчанова Е.В.* — проведение вирусологических исследований, написание текста рукописи; *Бондарева О.С.* — проведение молекулярно-генетических исследований, написание текста рукописи; *Антонов А.С.* — проведение полногеномного секвенирования, написание текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 14.11.2023;
принята к публикации 28.12.2023;
опубликована 28.02.2024

Information about the authors

Andrey V. Toporkov — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Director, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3449-4657>

Elena V. Putintseva — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of epidemiological analysis and epizootological monitoring, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9368-6165>

Svetlana K. Udovichenko^{ORCID} — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of epidemiological analysis and epizootological monitoring, Volgograd Research Institute for Plague Control, vari2@sprint-v.com.ru, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8682-1536>

Natalya V. Boroday — senior researcher, Laboratory of epidemiological analysis and epizootological monitoring, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2076-5276>

Elena V. Molchanova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of arbovirus infections, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3722-8159>

Olga S. Bondareva — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of genodiagnostics particularly dangerous infections, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5690-6686>

Aleksander S. Antonov — researcher, Laboratory of bioinformation analysis, Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9342-7211>

Author contribution: *Toporkov A. V.* — the concept and design of the study; *Putintseva E. V.*, *Udovichenko S. K.* — concept and design of the study, data collection and processing, organizing the collection of clinical material, writing the text of the manuscript, interaction with the institutions of Rospotrebnadzor; *Boroday N. V.* — collection of field material, data processing; *Molchanova E. V.* — conducting virological research, writing the text of the manuscript; *Bondareva O. S.* — conducting molecular genetic research, writing the text of the manuscript; *Antonov A. S.* — carrying out full genome sequencing, writing the text of the manuscript. All authors made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 14.11.2023;
accepted for publication 28.12.2023;
published 28.02.2024