

УДК 578.833.28:578.427(571.1)

**ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА
И ЕГО ГЕНОТИПИРОВАНИЕ В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ
(ACARI: IXODIDAE) В ТОМСКЕ И ЕГО ПРИГОРОДАХ**

© Н. С. Москвитина,¹ В. Н. Романенко,¹ В. А. Терновой,² Н. В. Иванова,¹
Е. В. Протопопова,² Л. Б. Кравченко,¹ Ю. В. Кононова,² В. Н. Куранова,¹
Е. В. Чаусов,² С. С. Москвитин,¹ Н. Л. Першикова,² С. И. Гашков,¹
С. Н. Коновалова,² Н. П. Большакова,¹ В. Б. Локтев²

¹ Томский государственный университет,
кафедра зоологии позвоночных и экологии
пр. Ленина, 36, Томск, 634050
E-mail: zoo_tsu@mail.ru

² Отдел молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов,
ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Кольцово, Новосибирская обл., 630559
Поступила 31.10.2007

В биотопах г. Томска и его окрестностей в 2006 г. обнаружено 4 вида клещей: *Ixodes persulcatus*, *Ix. pavlovskyi*; *Ix. trianguliceps* и *Dermacentor reticulatus*. В городских биотопах доминировал *Ix. pavlovskyi*, а в пригородах — *Ix. persulcatus*. По данным ОТ ПЦР и иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител против белка Е вируса Западного Нила (ВЗН), была обнаружена вирусная РНК и вирусный антиген у *Ix. pavlovskyi* и *Ix. persulcatus* как в городских, так и в пригородных биотопах. Средний уровень клещей, инфицированных ВЗН, колебался от 5.2 до 11.7 %. Определение нуклеотидной последовательности фрагмента гена белка Е ВЗН позволило отнести выделенные фрагменты к ДНК к генотипу Ia ВЗН, а именно к штаммам, сходным с Волгоградским штаммом LEIV-Vlg99-27889-human ВЗН. Полученные данные свидетельствуют о возможности формирования природных очагов ВЗН в черте города и его пригородах с предполагаемым участием двух видов иксодовых клещей. Инфицированные ВЗН клещи *Ix. persulcatus* и *Ix. pavlovskyi* были обнаружены среди имаго, личинок и нимф, снятых как с мелких млекопитающих и ящериц, так и с птиц, что позволяет предположить их вовлечение в циркуляцию и распространение ВЗН на территории Томской обл.

Циркуляция вируса Западного Нила хорошо документирована для Африки (Guthrie et al., 2003), Южной и Северной Америки (Lanciotti et al., 1999; Morales et al., 2006; Bosch et al., 2007), Австралии, Евразии (Hayes, 1989; Hübalek, Halouzka, 1999; Mackenzie et al., 2003). На территории России стойкие природные очаги ВЗН обнаружены в Астраханской и Волгоградской областях, а также в Краснодарском крае (Тимофеева и др., 1972, 1974; Lvov et al., 2000; Альховский и др., 2003). Наличие РНК и антигенов ВЗН у птиц на

территории Новосибирской обл. и в Приморском крае было обнаружено в период с 2002 по 2004 гг. (Терновой и др., 2004, 2006; Кононова и др., 2006). В 2004 г. были выявлены первые больные лихорадкой Западного Нила в Новосибирской обл. (Терновой и др., 2007). Выборочная оценка наличия антител к ВЗН у населения сельских районов юга Новосибирской обл. показала, что в некоторых группах населения до 23.5 % исследованных сывороток человека имели антитела к ВЗН (Кононова и др., 2005). Несколько позднее была подтверждена циркуляция ВЗН в Приморском крае у домашних животных и местного населения (Щелканов и др., 2007). Геногипирование ВЗН в Новосибирской обл. и Приморском крае показало, что в исследованных образцах обнаруживается ВЗН генотипа 1a. Эти варианты имели высокий уровень гомологии нуклеотидной последовательности со штаммом WNV/LEIV-Vlg00-27924 ВЗН, который был выделен в Волгограде в 2000 г. Это позволило предположить формирование новых природных очагов ВЗН в Азиатской части России, причем в этих районах циркулировал ВЗН, филогенетически очень близкий к ВЗН, выявленному на юге европейской части России в 1999—2000 гг.

Циркуляцию ВЗН в природных очагах поддерживают главным образом более 300 видов птиц и кровососущие комары (Diptera, Culicidae) различных видов (Anderson et al., 1999; Львов и др., 2002; Федорова и др., 2004). Многие млекопитающие, в том числе и домашние животные — лошади, овцы, верблюды, крупный рогатый скот, — также участвуют в этом процессе.

Клещи родов *Ornithodoros* и *Hyalomma* способны выступать в качестве переносчиков инфекции (Львов, Ильичев, 1979; Львов и др., 2004). Некоторые виды иксодовых клещей, такие как *Ix. scapularis* Say, 1921, *D. andersoni* Stiles, 1908 и *D. variabilis* (Say, 1921), были способны поддерживать репликацию ВЗН после питания на инфицированных хомьячках и мышах (Anderson et al., 2003). Для другого американского вида иксодид — *Ix. pacificus* Cooley et Kohls, 1943 при исследовании возможности трансстадийной передачи ВЗН и инфицирования прокормителей были получены похожие результаты (Reisen et al., 2007). Аргасовые (*Ornithodoros moubata* Murray, 1877) и иксодовые (*Ixodes ricinus* (L., 1758)) клещи также становились инфицированными при питании на мышах в период вирусемии после заражения штаммом NY99 ВЗН (Lawrie et al., 2004).

Обнаружение на юге Западной Сибири циркуляции ВЗН поставило вопрос о вероятном формировании в регионе природных очагов этой инфекции с возможным участием клещей. С целью подтверждения этой гипотезы мы провели исследование взрослых иксодовых клещей, личинок и нимф, снятых с мелких млекопитающих, птиц и ящериц в биотопах г. Томска и его пригородов, на наличие маркеров (вирусной РНК и антигена) вируса Западного Нила.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Учеты численности и сборы клещей проводили методом отлова «на флаг» (Временные методические указания, 1959). Периодичность сборов для оценки их количества составляла от 7 до 10 дней. Отлов проводили во второй половине дня, когда наблюдается максимальная активность иксодид.

Сбор клещей с прокормителей. Каждое добытое животное (мелкие млекопитающие, птицы, ящерицы) помещали в отдельный мешочек из светлой

ткани, который затем осматривали на наличие эктопаразитов. У животного обследовали наиболее вероятные места присасывания клещей. Клещей собирали в индивидуальные пластиковые микропробирки, на дно которых помещали кусочки влажной марли для предотвращения гибели от высыхания. Клещей, помещенных в пробирки, хранили в холодильнике при +4 °С.

Объем полученного материала. В ходе проведенных работ собрано 1960 клещей, из которых 500 исследовано на наличие маркеров ВЗН.

Характеристика мест сбора. Город Томск расположен на крайнем юго-востоке Западно-Сибирской равнины. Район исследования находится в подзоне, переходной от темнохвойной тайги и сосновых лесов к мелколиственным лесам. Сбор материала проводили на 5 участках города и пригорода (рис. 1).

Биотоп «Коларово» — южный пригород Томска, расположен приблизительно в 10 км от городской черты, недалеко от реки Томь (около 800 м). Географические координаты начальной точки участка — 56°21.034' северной широты (с. ш.); 84°57.170' восточной долготы (в. д.). Биотоп представляет собой участок осиново-березового леса с мозаично выраженным разнотравьем; подстилка — из листовенного, местами хвойного, хвойно-лиственного опада и веток.

Биотоп «ТНХЗ» (56°37.348' с. ш.; 84°59.241' в. д.) — второй пригородный участок. Располагается в 10 км к северу от г. Томска, в районе Томского нефтехимического завода (ТНХЗ), в осиново-березовом лесу с примесью сосны и равномерным мощным травостоем. Расстояние между самым северным биотопом «ТНХЗ» и южным биотопом «Коларово» составляет около 30 км, причем около 10 км из этого расстояния составляют городские районы г. Томска.

Городской биотоп «ТГУ» (56°27.979' с. ш.; 84°56.688' в. д.) — это территория Ботанического сада, которая представляет относительно изолированный старый городской парк с посадками плодово-ягодных и декоративных культур в административном центре г. Томска, на расстоянии около 600 м от р. Томь. Характерной особенностью этого участка является слабо выраженная подстилка в силу ежегодно проводимой уборки территории.

Городской биотоп «Старое кладбище» (56°26.917' с. ш.; 84°58.803' в. д.) располагается на южной окраине города, на расстоянии около 3 км от биотопа «ТГУ» и относится к числу наименее посещаемых людьми. По составу растительности и характеристикам он сходен с пригородными участками.

Городской биотоп «Стадион» расположен на расстоянии около 200 м от биотопа «Старое кладбище» и отделен от него железной и автомобильной дорогами. Он в сильной степени подвержен рекреационной нагрузке и имеет много открытых пространств с уплотненной почвой и плохо выраженной подстилкой.

Географические координаты мест сбора были определены при помощи прибора спутниковой навигации Garmin GPSmap 76CSx с точностью около 4 м.

Хранение и транспортировку полевых образцов ткани для определения маркеров ВЗН осуществляли в 2 мл пластиковых криопробирках (Nunc, Дания), которые опускали в сосуды Дьюара, содержащие жидкий азот, где образцы хранились до начала тестирования.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Выявление антигенов ВЗН в 10 % гомогенатах полевых образцов проводили иммуноферментным методом с ис-

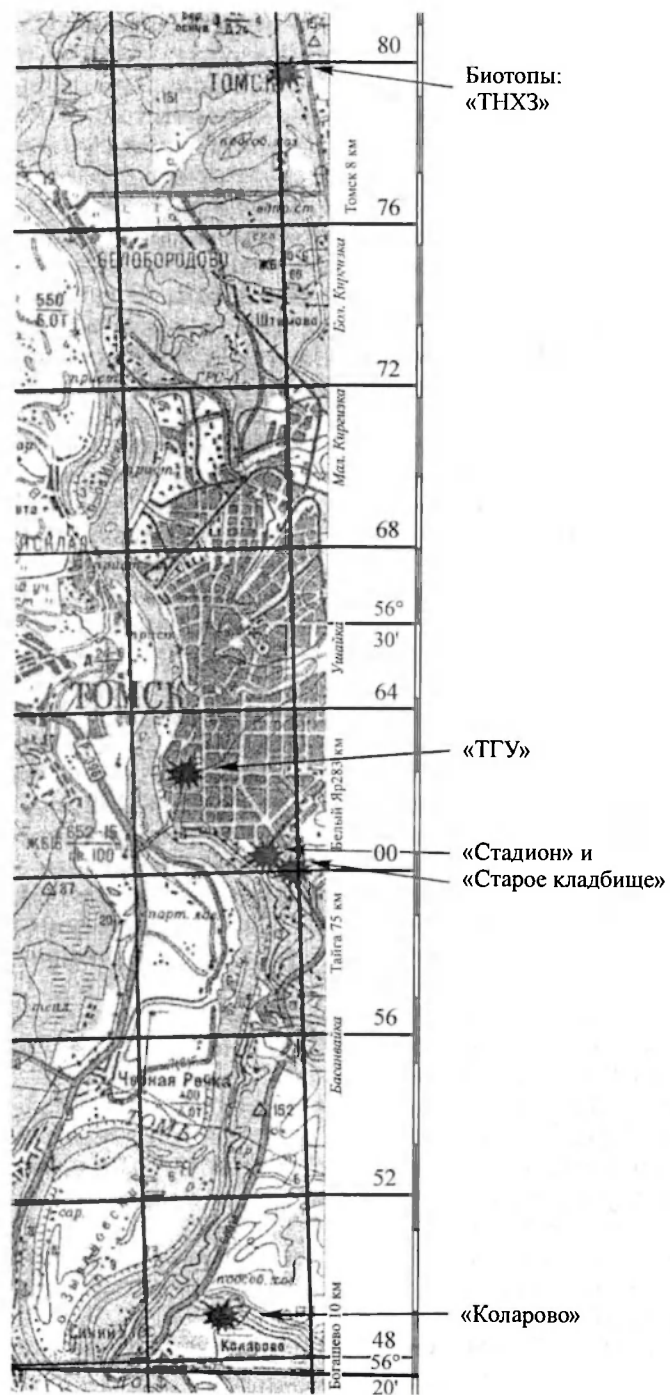


Рис. 1. Расположение участков исследования в г. Томске и его окрестностях.

Черной точкой обозначено место сбора материала.

Fig. 1. Collection localities in Tomsk City and its suburbs.

пользованием в качестве подложки из смеси 3 очищенных мышинных моноклональных антител 3А6, 6Н4 и 2В9 против вируса Западного Нила (Терновой и др., 2004). Связавшийся антиген выявляли при помощи мышинных поликлональных антивирусных IgG, меченных биотином, и стрептавидин-пероксидазы (Sigma, США). Антиген вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) выявляли аналогичным способом с использованием моноклональных антител 10Н10 против ВКЭ в качестве подложки и моноклональных антител ЕВ1 против ВКЭ, меченных биотином (Протопопова и др., 1996). Положительными считали пробы, где сигнал превышал отрицательный контроль от неинфицированных клещей в 2 и более раза. В качестве отрицательных контрольных образцов использовали: I — гомогенаты от неинфицированных клещей; II — гомогенаты клещей, инфицированных вирусом клещевого энцефалита; III — гомогенаты клещей, инфицированных возбудителем боррелиоза (*Borrelia garinii*) по данным ПЦР с последующим генотипированием; IV — гомогенаты клещей, инфицированных возбудителем клещевого риккетсиоза (*Rickettsia sibirica* или *Rickettsia raoultii*) по данным ПЦР. В качестве положительных контролей использовали очищенный антиген ВЗН, штамм LEIV-Vlg99-27889-human (Vlg 27889) ВЗН и очищенный антиген ВКЭ, штамм 205. Культивирование и очистку флавивирусов проводили центрифугированием в градиенте плотности сахарозы, как описано ранее (Гайдамович и др., 1990). Концентрацию очищенных препаратов измеряли с помощью набора Bio-Rad Protein Assay («Bio-Rad», США).

Выделение РНК проводили из образцов ткани клещей, гомогенизированных в 200 мкл 3М раствора ацетата натрия (рН 5.2). К 100 мкл гомогената добавляли 5 объемов TRIzol® Reagent («Invitrogen Corporation», США), инкубировали при 65 °С в течение 15 мин, добавляли 150 мкл хлороформа и экстрагировали водную фазу. Водную фазу еще раз промывали 150 мкл хлороформа и переносили в новую пробирку. Затем добавляли 500 мкл охлажденного изопропанола и 1 мкл гликогена и хранили при –20 °С. Перед отбором РНК образец центрифугировали при 14 000 об./мин × 20 мин, 4 °С на центрифуге Z233МК-2 («Hermle», Германия). Выделенную РНК отмывали 70%-ным этанолом.

Синтез кДНК проводили добавлением к сухому осадку, содержащему РНК, следующей смеси: 6 мкл воды, 2 мкл 5мМ смеси дезоксинуклеотид-3'-фосфатов, 1.5 мкл 0.5М Трис-НСl (рН 8.0), 1.5 мкл 0.5М NaCl, 1.5 мкл 10мМ дитиотрейтола, 0.5 мкл гексануклеотида 5'-NNNNNN-3' (40мкМ), 5 ед. RNAase Inhibitor («Boehringer Mannheim GmbH», Германия). Смесь прогревали 1 мин при 95 °С, помещали в ледяную баню, затем добавляли 25 ед. обратной транскриптазы (ОТ) вируса лейкоза мышей, M-MuLV. Синтез кДНК проводили в течение 1 ч при 37 °С.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для выявления специфической кДНК вируса Западного Нила проводилась с использованием пары праймеров: WN910F 5'-GGGATCCACACCATGCAGAGAGTTGTGTT-3' и WN1493R 5'-CAGCTTACAGCTTCAACTGCCTTGGATGAGC-3' (Терновой и др., 2006). Для выявления кДНК вируса клещевого энцефалита были использованы следующие праймеры: TBE1F 5'-AATTGATTTGGTGAAAGGAA-3' и TBE2R 5'-GTGATCTGACSTTTGATGT-3' (Ternovoy et al., 2003, Ternovoi et al., 2007). Праймеры были синтезированы в ГНЦ ВБ «Вектор» (Новосибирск). Параметры ПЦР (Eppendorf Mastercycler Gradient, Германия): 94 °С × 10 с, 55 °С × 30 с с градиентом 1 °С/цикл, 72 °С × 1 мин (5 циклов), 94 °С × 10 с, 52 °С × 30 с, 72 °С × 30 с (40 циклов), 72 °С × 7 мин.

Определение нуклеотидной последовательности выделенного ПЦР-фрагмента проводили на автоматическом секвенаторе «Beckman SEQ2000XL» (Beckman Coulter, США) согласно инструкции производителя. Нуклеотидные последовательности для проведения филогенетического анализа были получены из базы данных GenBank. Обработка последовательностей проводилась с использованием специализированных программных пакетов MEGA (PSU, США) и DNASTAR (DNAStar Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Видовое разнообразие клещей с различных участков г. Томска и его окрестностей

На территории вышеописанных биотопов г. Томска и его окрестностей в течение весенне-летнего сезона 2006 г. обнаружено 4 вида клещей: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *Ix. pavlovskyi* Pomerantzev, 1946; *Ix. trianguliceps* Vignola, 1895 и *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794). Кроме названных видов, на окраине города в единичных экземплярах отмечен вид *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844 (Романенко, 2005). В «Коларово» в начале июня максимальная численность *Ix. persulcatus* составила 61 особей/уч. км, *Ix. pavlovskyi* в учете не отмечен, но личинки изредка встречались на мелких млекопитающих. На «ТНХЗ» доминирует *Ix. persulcatus*, пик численности которого (50 ос./уч. км) был зафиксирован в середине первой декады июня. Кроме того, в небольшом количестве (2 ос./уч. км) здесь обнаружен *Ix. pavlovskyi*. Наиболее разнообразен видовой состав клещей в биотопе «Старое кладбище», где встречается 3 вида и доминирует *Ix. pavlovskyi* (51 ос./уч. км в конце мая). Значительно ниже здесь численность *Ix. persulcatus* (5 ос./уч. км в конце мая) и *D. reticulatus* (2 ос./уч. км в конце мая). На «Стадионе» отмечен только *Ix. pavlovskyi*, максимальная численность которого составила в конце мая 17 ос./уч. км. В биотопе «ТГУ» численность клещей минимальна. За весь период исследований здесь отловлено по одной особи *Ix. persulcatus* и *Ix. pavlovskyi*.

Как по данным учетов клещей «на флаг», так и по количеству личинок и нимф, собранных с различных животных, в городских местообитаниях доминирует *Ix. pavlovskyi*, а в пригородной зоне наиболее значительна доля *Ix. persulcatus* (табл. 1, 2). Долгое время считалось, что на юго-востоке Западной Сибири на человека и домашних животных нападают иксодиды двух

Таблица 1

Видовой состав и доля в учетах на флаг (количество/доля, %) клещей в г. Томске и его окрестностях

Table 1. Species composition, number of specimens, and percentage of the ticks collected by flagging in Tomsk City and its suburbs

Виды	«Коларово»	«ТНХЗ»	«Старое кладбище»	«Стадион»	«ТГУ»
	Всего особей/%	Всего особей/%	Всего особей/%	Всего особей/%	Всего особей/%
<i>Ix. persulcatus</i>	198/100.0	111/97.4	7/4.1	—	1/50.0
<i>Ix. pavlovskyi</i>	—	3/2.6	159/93.0	66/100.0	1/50.0
<i>D. reticulatus</i>	—	—	5/2.9	—	—

Таблица 2

Видовой состав и доля в сборах (количество/доля, %) личинок, нимф и имаго клещей, снятых с прокормителей в г. Томске и его окрестностях

Table 2. Species composition, number of specimens, and percentage of the ticks (larvae, nymphs, and imago) collected from different hosts in Tomsk City and its suburbs

Виды	Виды клещей	«Коларово»	«ТНХЗ»	«Старое кладбище»	«Стадион»
		n/%	n/%	n/%	n/%
Рептилии: <i>Zootoca vivipara</i>	<i>Ix. persulcatus</i>	1/100.0	1/100.0	—	—
Птицы: <i>Turdus pilaris</i> , <i>T. iliacus</i> , <i>Phoenicurus phoenicurus</i>	<i>Ix. persulcatus</i>	—	4/100.0	9/10.0	—
	<i>Ix. pavlovskyi</i>	—	—	81/90.0	—
Млекопитающие: <i>Apodemus agrarius</i> , <i>Microtus agrestis</i> , <i>M. oeconomus</i> , <i>Clethrionomys glareolus</i> , <i>Cl. rutilus</i> , <i>Cl. rufocanus</i> , <i>Sorex araneus</i>	<i>Ix. persulcatus</i>	461/91.3	84/66.7	53/8.6	2/3.2
	<i>Ix. pavlovskyi</i>	44/8.7	39/31	551/89.0	60/95.2
	<i>Ix. trianguliceps</i>	—	3/2.4	—	—
	<i>D. reticulatus</i>	—	—	15/2.4	1/1.6

видов. Это — таежный клещ *Ix. persulcatus* и *D. reticulatus*. Относительно недавно было обнаружено обитание здесь и *Ix. pavlovskyi* (Романенко, Чекалкина, 2004). Обитающие на территории Томской обл. другие виды клещей рода *Ixodes* тесно связаны с укрытиями и на человека не нападают.

Определение инфицированности ВЗН собранных клещей

Суммарная зараженность клещей ВЗН по данным ОТ ПЦР и иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител против белка Е ВЗН приведена в табл. 3. Как видно из представленных данных, маркеры ВЗН (вирусная РНК и вирусный антиген) были обнаружены у двух основных видов — *Ix. pavlovskyi* и *Ix. persulcatus* как в городских, так и в пригородных биотопах. Уровень инфицированных клещей колебался от $5.2\% \pm 1.4$ до $11.7\% \pm 2.1$. Полного совпадения данных двух тестов не наблюдалось, что, видимо, связано с их разной чувствительностью и специфичностью. Принципиально важно отметить, что была выявлена инфицированность разных фаз развития клещей: маркеры ВЗН обнаружены как у

Таблица 3

Суммарная зараженность клещей (все стадии развития) ВЗН в г. Томске и его окрестностях

Table 3. Total infection rate of the ticks (all stages) by the West Nile virus in Tomsk City and its suburbs

Вид	<i>Ix. persulcatus</i>			<i>Ix. pavlovskyi</i>		
	Всего проб клещей	Положительных		Всего проб клещей	Положительных	
		ИФА, % $\pm m$	ОТ-ПЦР, % $\pm m$		ИФА, % $\pm m$	ОТ-ПЦР, % $\pm m$
«Коларово»	147	8.2 ± 2.3	8.2 ± 2.3	3	0	0
«ТНХЗ»	71	8.5 ± 3.3	19.7 ± 4.7	—	—	—
«Старое кладбище»	11	0	9.1 ± 8.7	214	10.7 ± 2.1	4.7 ± 1.5
«ТГУ»	1	0	0	1	100	0
«Стадион»	1	0	0	51	11.8 ± 4.5	7.8 ± 3.8
Всего	231	7.8 ± 1.8	11.7 ± 2.1	269	11.2 ± 1.9	5.2 ± 1.4

Таблица 4

Обнаружение инфицированных ВЗН клещей разных стадий, снятых с различных видов прокормителей

Table 4. Occurrence of the ticks (all stages) infected by the West Nile virus on different host species

Класс: Вид	Участок	Стадия	<i>Ix. persulcatus</i>			<i>Ix. pavlovskyi</i>		
			Всего проб	Положительных		Всего проб	Положительных	
				ИФА, % ± m	ОТ-ПЦР, % ± m		ИФА, % ± m	ОТ-ПЦР, % ± m
Рептилии: <i>Zootoca vivipara</i>	«ТНХЗ»	нимфы	1	0	0	—	—	—
	«Коларово»	»	1	100	100	—	—	—
Птицы: <i>Turdus pilaris</i> , <i>T. iliacus</i> , <i>Phoenicurus phoenicurus</i>	«ТНХЗ»	личинки	1	0	0	—	—	—
	«Старое кладбище»	нимфы	2	0	0	—	—	—
		личинки	1	0	100	10	10.0 ± 9.5	0
		нимфы	2	0	0	15	20.0 ± 10.3	6.7 ± 6.5
		имаго	—	—	—	13	7.7 ± 7.4	30.8 ± 12.8
Млекопитающие: <i>Apodemus agrarius</i> , <i>Clethrionomys glareolus</i> , <i>Cl. rutilus</i> , <i>Cl. rufocanus</i> , <i>Sorex araneus</i>	«Коларово»	личинки	30	0	10.0 ± 5.5	2	0	0
	«Старое кладбище»	нимфы	19	10.5 ± 7.0	5.3 ± 5.1	1	0	0
		личинки	3	0	0	80	8.6 ± 3.1	0
		нимфы	2	0	0	15	6.7 ± 6.5	6.7 ± 6.5
		имаго	—	—	—	1	0	0
		«Стадион»	личинки	1	0	0	20	0

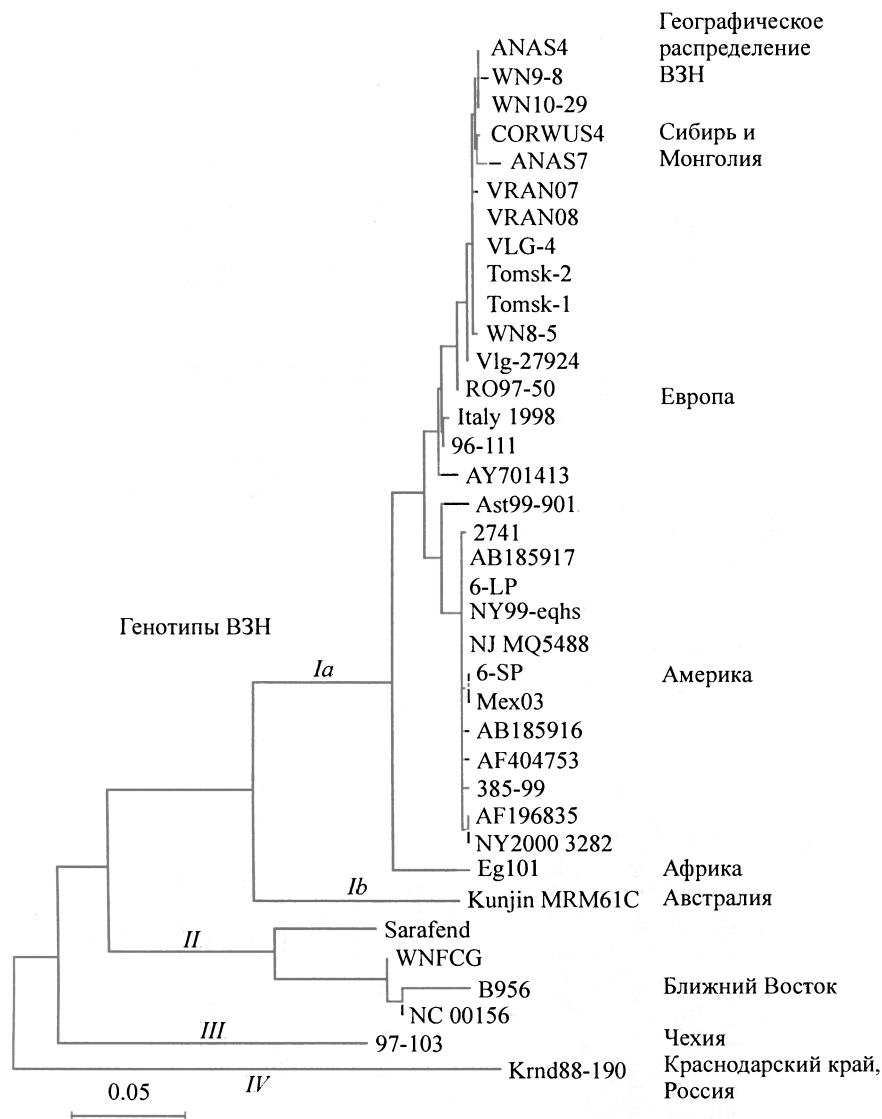


Рис. 2. Филогенетическое дерево ВЗН, построенное по нуклеотидной последовательности фрагмента гена белка Е.

Tomsk-1 и 2 — ВЗН из биотопов «ТХНК», клещ *Ix. persulcatus* и «Старое кладбище», клещ *Ix. pavlovskyi*; Кулундинская степь, июнь—июль 2003 г., *Anas4* чирок-трескунок, *Anas7* — чирок-свистунок; Барабинская лесостепь, 2002 г., *Corvus4*, *Vran07* и 08 — грачи; VLG-4 — штамм LEIV-Vlg99-27889-human ВЗН; Vlg-27924 — штамм LEIV Vlg00 27924 ВЗН; Северо-Западная Монголия, 2003 г. — WN9-8 — клушица; WN10-29 и WN8-5 — большой баклан. Остальные обозначения нуклеотидных последовательностей или их названия приведены по базе GenBank; Krnd88-190 (AY277251), Ast99-901 (AY278441), 97-103 (AY765264), WNFCG (M12294M10103), Sarafend (AY688948), LEIV-Vlg99-27889 (AY277252), LEIV-Vlg00-27924 (AY278442), VLG-4 (AF317203), 385-99 (AY842931), 6-SP (AB185914), 2741 (AF206518), 6-LP (AB185917), 6-SP (AB185916), Eg101 (AF260968), NY99-eqhs (AF260967), RO97-50 (AF260969), 2741 (AF206518), NY2000-3282 (AF404755), KUNCG (D00246), Italy 1998-equine (AF404757).

Fig. 2. Phylogenetic tree of the West Nile virus based on the sequence of a fragment of protein E gene.

имаго, собранных «на флаг», так и у личинок, нимф и имаго, снятых с животных различных классов — рептилий, птиц и млекопитающих (табл. 4). Важность этого наблюдения состоит в том, что инфицирование ВЗН разных стадий развития клещей говорит о возможности формирования природного очага ВЗН в исследованных городских и пригородных биотопах г. Томска. Необходимо также отметить наличие инфицированных клещей *Ix. persulcatus* и *Ix. pavlovskyi*, обнаруженных на 3 видах птиц, собранных в первой декаде июня, что указывает на возможное вовлечение птиц в циркуляцию и распространение ВЗН. Определение маркеров ВКЭ показало, что уровень инфицированности клещей *Ix. pavlovskyi* и *Ix. persulcatus* в исследованных биотопах колеблется от 2.5 до 12.7 %. Этот уровень инфицированности клещей ВКЭ хорошо согласуется с известными данными по вирусофорности клещей на юге Западной Сибири. Важно отметить, что совместное наличие в пробе маркеров ВЗН и ВКЭ было зарегистрировано в 1.69 % исследованных проб.

Первые положительные находки маркеров ВЗН у клещей зарегистрированы в первой декаде мая, наибольшее количество инфицированных клещей соотносится с пробами, собранными в первой декаде июня. Второй подъем инфицированности отмечается в начале июля. Это позволяет предположить, что активная передача ВЗН клещами осуществляется в течение всего сезона их активности. Раннее обнаружение инфицированных ВЗН клещей говорит о возможности его сохранения в зимний период. Как было показано выше, на городских и пригородных участках доминируют разные из двух видов клещей. Поскольку уровень их инфицированности ВЗН вполне сопоставим, можно говорить о равнозначности роли *Ix. persulcatus* и *Ix. pavlovskyi* в циркуляции вируса ЛЗН в целом, однако в городских условиях более важная роль принадлежит *Ix. pavlovskyi*.

Генотипирование ВЗН, циркулирующего в исследованных биотопах

Из положительных проб от клещей *Ix. persulcatus* (пригородный биотоп «ТНХЗ», флаг) и *Ix. pavlovskyi* (городской биотоп «Старое кладбище», сняты с дрозда-рябинника) удалось выделить фрагменты кДНК ВЗН и провести определение нуклеотидной структуры фрагмента гена белка Е. Проведенный филогенетический анализ нуклеотидной структуры фрагмента кДНК ВЗН позволил отнести выделенные фрагменты кДНК к генотипу 1a ВЗН, а именно к штаммам, сходным со штаммом LEIV-Vlg99-27889-human ВЗН (рис. 2). Этот штамм был выделен из мозга погибшего в 1999 г. пациента в г. Волгограде, и циркуляция подобных штаммов ВЗН ранее обнаружена в Новосибирской области, где они были отмечены у птиц, мелких грызунов и людей (Терновой и др., 2004; Кононова и др., 2006; Терновой и др., 2007).

ОБСУЖДЕНИЕ

О наличии на территории городов иксодовых клещей свидетельствуют работы, появившиеся в печати в последнее десятилетие. Клещи найдены на территории таких крупных городов, как Санкт-Петербург (Антыкова и др., 1998), Омск (Федоров и др., 1999), Миасс (Ткачев, Ткачев, 1997; Захарова, Захаров, 2000), Томск (Романенко, 1999, 2003; 2005; Романенко, Панкова, 2001). Вместе с тем надо отметить, что еще в середине XX в. С. П. Карпов,

В. М. Попов и А. Г. Колмакова (1960: стр.24) обратили внимание на то, что в Западной Сибири «большая часть очагов клещевого энцефалита находится... в окрестностях крупных промышленных центров (Томск, Прокопьевск, Сталинск, Анжеро-Судженск, Гурьевск, Белово и др.)». Все эти очаги связывались с одним видом иксодовых клещей — *Ix. persulcatus*.

В течение последних 12 лет в Томской обл. официально регистрируется от 16.5 до 29 тыс. человек с укусами клещей. Значительная часть из них — городское население (Пилипенко, Несветайло, 2006). При этом вполне понятно, что реальное количество людей, подвергшихся нападению клещей, значительно больше, так как не все пострадавшие обращаются за медицинской помощью. Заболеваемость населения клещевым энцефалитом в Томской обл. в 2005 г., по данным Федеральной службы государственной статистики (Пилипенко, Несветайло, 2006), составила 329 человек, при этом на городское население пришлось 66.4 % всех случаев КЭ. Случаев заболевания человека лихорадкой Западного Нила в Томской обл. выявлено не было. Однако на территории соседней Новосибирской обл. были описаны первые случаи лихорадки Западного Нила у человека в 2004 г. (Терновой и др., 2007). Выборочные эпидемиологические исследования среди сельского населения степной и лесостепной зон показали наличие у них антител к ВЗН и ВКЭ (Кононова и др., 2005). Причем, в некоторых группах населения южных степных районов области уровень сероконверсии по отношению к ВЗН достигал 23.5 %. Ранее в этих районах заболеваемость КЭ практически не регистрировалась.

Высокая активность клещей, нападающих на человека, и высокий уровень заболеваемости клещевым энцефалитом в Томске свидетельствуют, что появление ВЗН в экосистеме г. Томска и его пригородов делает вероятным заражение человека и этой инфекцией. Клиническая картина заболевания лихорадкой Западного Нила и клещевым энцефалитом во многом сходна (Деконенко и др., 2002; Calisher, Karabatsos, 1988). Более того у ВЗН и ВКЭ, относящихся к флавивирусам, имеется выраженный антигенный перекрест в серологических реакциях и высокий уровень гомологии вирусного генома (Burke, Monath, 2001). Это может приводить к неправильной диагностике этих заболеваний в клинике и требует проведения дифференциальной диагностики этих инфекций у больных после укусов клещей. Описание в Новосибирской обл. случая лихорадки Западного Нила у пациента, прошедшего полный курс вакцинации против ВКЭ, говорит о неэффективности вакцины против ВКЭ в отношении близкородственного ВЗН (Терновой и др., 2007). Другая потенциальная группа пациентов, которые могут болеть лихорадкой Западного Нила, может формироваться из больных после укуса клеща с неподтвержденным диагнозом клещевой энцефалит и клещевой боррелиоз. Данная группа пациентов весьма многочисленна и, как правило, превышает в 2—3 раза количество больных с подтвержденным диагнозом клещевой энцефалит. Более детальное обследование этих групп пациентов после укуса клещей на наличие у них лихорадки Западного Нила может позволить выявить истинную картину распространенности этой инфекции в регионе. Факты нахождения маркеров ВЗН у двух видов иксодовых клещей не дают строго ответа на вопрос о роли клещей в формировании природного очага этой инфекции. Однако ранее была показана восприимчивость клещей *O. savignyi* Audouin и *O. erraticus* Lucas, 1849 к вирусу Западного Нила и возможность его вертикальной передачи (Hurlbut, 1956; Taylor et al., 1956). Инфицированные клещи *O. maritimus* Vermeil et Marguet, 1967 и *O. erraticus* способны передавать ВЗН неинфицированным мышам (Law-

rie et al., 2004). Для 3 американских видов иксодовых клещей *I. scapularis*, *D. andersoni* и *D. variabilis* была показана способность трансстадийной передачи ВЗН при питании в стадии личинки и/или нимфы на хомячках и мышах в период вирусемии. При этом наблюдалась очень низкая эффективность передачи вируса, а взрослые клещи, инфицированные на предыдущей стадии развития, не передавали ВЗН интактным мышам (Anderson et al., 2003). Для другого американского вида иксодид *Ix. pacificus* при исследовании возможности трансстадийной передачи ВЗН и инфицирования прокормителей были получены похожие результаты (Reisen et al., 2007). При исследовании аргасовых *O. moubata* и иксодовых *Ix. ricinus* клещей как потенциальных векторов ВЗН в Америке было установлено, что оба вида клещей становились инфицированными при питании на мышах в период вирусемии, развившейся у последних после заражения штаммом ВЗН NY99 (Lawrie et al., 2004). Однако у *Ix. ricinus* вирус исчезал к 28 дню после прекращения питания, в то время как у *O. moubata* он сохранялся до 132-го дня у клещей, перешедших в следующую возрастную стадию. Возможность восприятия, длительного хранения ВЗН и трансмиссивной, трансфазовой и трансвариальной его передачи клещами *Ix. ricinus*, *D. andersoni*, *D. reticulatus* показана И. А. Азаровой и Н. П. Мишаевой (2002). Эти предпосылки вместе с появлением ВЗН в экосистеме г. Томска и его пригородов свидетельствуют о вероятном формировании природных очагов этой инфекции с участием иксодовых клещей, что делает возможным заражение домашних животных и человека этой инфекцией.

Проведенное генотипирование двух Томских вариантов ВЗН показало, что они представлены штаммами генотипа Ia ВЗН (рис. 2). Томские варианты сходны с Волгоградским штаммом ВЗН LEIV-Vlg99-27889-human ВЗН. Уровень генетических отличий невысок и степень гомологии нуклеотидной последовательности Томских и Волгоградских вариантов по фрагменту гена белка Е составляет около 99 %. Ранее аналогичные варианты ВЗН были обнаружены в Новосибирской обл. и на юге Приморского края (Терновой и др., 2004; Кононова и др., 2006; Терновой и др., 2006, Терновой и др., 2007). Они также имели минимальные отличия от Волгоградских вариантов ВЗН. Подобная картина наблюдалась в США, где было описано распространение ВЗН практически на всей территории США при минимальных генетических изменениях вируса (Lanciotti et al., 2002). Это свойство ВЗН значительно отличает его от другого типичного для России флавивируса — вируса клещевого энцефалита. Так, уровень генетических отличий между европейским, сибирским и дальневосточными генотипами ВКЭ может достигать почти 18 % (Ternovoi et al., 2007). Уровень генетических отличий между ВКЭ и ВЗН существенно выше и составляет 28—32 % для консервативного гена NS5, кодирующего вирусную полимеразу. Столь выраженная разница нуклеотидной последовательности делает генетическую диагностику этих вирусов достоверной. В целом же можно сказать, что данные филогенетического анализа однозначно подтверждают распространение генотипа Ia ВЗН на территории Западной Сибири.

Полученные данные свидетельствуют в пользу существования новых природных очагов ВЗН, ранее не выявлявшихся на юге Западной Сибири, причем, это может быть связано с вовлечением в этот процесс иксодовых клещей, играющих важную роль в циркуляции другого флавивируса — вируса клещевого энцефалита. Выявление новых дальневосточных вариантов ВКЭ в Новосибирской обл., способных вызвать геморрагическую форму клещевого энцефалита, показывает наличие изменений в природных очагах фла-

вивирусных инфекций в настоящее время (Терновой et al., 2003). Обнаружение новых для территории России высокопатогенных для человека геновариантов ВКЭ типа штамма Глубинное/2004 и способных более чем в 100 раз эффективнее реплицироваться в культуре клеток дополнительно подтверждает несовершенство наших знаний о генетическом разнообразии флавивирусов (Терновой et al., 2007). Это может быть также справедливым и в отношении изменений, протекающих в природных очагах этих вирусных инфекций. Поэтому особенности циркуляции ВЗН и ВКЭ, взаимодействие этих вирусов и иксодовых клещей на юге Западной Сибири и сопредельных территориях Северной Евразии нуждается в дальнейших более детальных исследованиях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования были поддержаны грантом РНП.2.1.1.7515 ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы».

Список литературы

- Азарова И. А., Мишаева Н. П. 2002. Закономерности циркуляции вируса Западного Нила в паразитарной системе «клещ-позвоночное» и факторы, влияющие на репродукцию и диссеминацию возбудителя // Экология, биоразнообразие и значение кровососущих насекомых и клещей экосистем России. Матер. II Республиканской науч. конф. 27—29 мая 2002г. : 128—133.
- Альховский С. В., Львов Д. Н., Самохвалов Е. И. и др. 2003. Обследование птиц дельты Волги (Астраханская область, 2001) на наличие вируса лихорадки Западного Нила методом обратной транскрипции — полимеразной цепной реакции // Вопросы вирусологии. 48 (1) : 14—17.
- Антыкова Л. П. и др. 1998. Иксодовые клещи (Acarina, Ixodidae) клещевой энцефалит, клещевой боррелиоз Лайма на территории города Санкт-Петербурга // Проблемы энтомологии в России. 1 : 22.
- Временные методические указания по изучению природных очагов клещевого энцефалита и оценке эффективности противоэнцефалитных мероприятий. 1959. Министерство здравоохранения РСФСР. М. 43 с.
- Гайдамович С. Я., Локтев В. Б., Лаврова Н. А. и др., 1990. Моноклональные антитела, перекрестно реагирующие с вирусом клещевого энцефалита и вирусом Венесуэльского энцефаломиелиита лошадей // Вопросы вирусологии. 35 (3): 221—225.
- Деконенко Е. П., Ларичев В. Ф., Бутенко А. М., Зоринев А. Б., Малышев Н. А. 2002. Тяжелая форма энцефаломиелиита, вызванная вирусом Западного Нила // Неврол. журн. 7 (6) : 19—22.
- Захарова Н. М., Захаров А. В. 2000. Региональный мониторинг заболеваемости клещевым энцефалитом // Социокультурные проблемы развития малых городов Западной Сибири. Ишим: ИГПИ. 13—14.
- Карпов С. П., Попов В. М., Колмакова А. Г. 1960. Типы очагов клещевого энцефалита в Западной Сибири и вопросы их оздоровления // Тр. Ин-та зоол. АН Каз. ССР. Алма-Ата. 12 с.
- Кононова Ю. В., Протопопова Е. В., Федянин А. П. и др. 2005. Выявление антител к флавивирусам у населения лесостепной и степной зон Новосибирской области в 2004 году // Журнал инфекционной патологии. 12 (3—4) : 97—99.
- Кононова Ю. В., Терновой В. А., Щелканов М. Ю. и др. 2006. Генотипирование вируса Западного Нила в популяциях диких птиц наземного и древесно-кустарникового комплексов на территориях Барабинской лесостепи и Кулундинской степи (2003—2004 гг.) // Вопросы вирусологии. 4 : 19—23.
- Львов Д. К., Ильичев В. Д. 1979. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекции. М.: Наука, 270 с.

- Львов Д. К., Джаркенов А. Ф., Львов Д. Н. и др. 2002. Изоляция вируса лихорадки Западного Нила от большого баклана *Phalacrocorax carbo*, вороны *Corvus corone* и собранных с нее клещей *Hyalomma marginatum* в пригородных и синантропных биоценозах в дельте Волги (Астраханская область, 2001 г.) // Вопросы вирусологии. 47 (5) : 7—12.
- Львов Д. К., Ковтунов А. И., Яшкулов К. Б. и др. 2004. Особенности циркуляции вируса Западного Нила (Flaviviridae, Flavivirus) и некоторых других арбовирусов в экосистемах дельты Волги, Волго-Ахтубинской поймы и сопредельных аридных ландшафтах (2000—2002 гг.) // Вопросы вирусологии. 49 (3) : 45—51.
- Пилипенко В. Г., Несветаило Н. Я. 2006. Состояние здоровья населения Томской области // Экологический мониторинг: Состояние окружающей среды Томской области в 2005 году. Томск: Графика. 108—117.
- Романенко В. Н. 1999. Особенности распространения таежного клеща (Ixodidae) в г. Томске // Паразитология. 1: 61—65.
- Романенко В. Н. 2003. Поведение иксодовых клещей как один из способов адаптации к условиям обитания // Вестн. Томск. гос. ун-та. Сер. Биол. науки. 8 :179—183.
- Романенко В. Н. 2005. Встречаемость клещей *Ixodes persulcatus* и *I. pavlovskiyi* в лесопарках, окружающих г. Томск // Тр. Кемер. отд. Русск. энтомол. общ-ва. Кемерово. 53—59.
- Романенко В. Н., Панкова Т. Ф. 2001. Зараженность таежного клеща боррелиями на территории г. Томска // Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии. Томск. 111—112.
- Романенко В. Н., Чекалкина Н. Б. 2004. Видовой состав иксодовых клещей на территории г. Томска // Вестн. Томск. гос. ун-та, секц. «Естественные науки». 11, приложение. 132—134.
- Терновой В. А., Щелканов М. Ю., Шестопапов А. М. и др. 2004. Выявление вируса Западного Нила у птиц на территории Барабинской и Кулундинской низменностей (Западно-Сибирский перелетный путь) в летне-осенний период 2002 г. // Вопросы вирусологии. 49 (3) : 52—56.
- Терновой В. А., Протопопова Е. В., Сурмач С. Г., Газетдинов М. В., Золотых С. И., Шестопапов А. М., Павленко Е. В., Леонова Г. Н., Локтев В. Б. 2006. Генотипирование вируса Западного Нила, выявленного у птиц на юге Приморского края в течение 2002 — 2004 годов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 4 : 30—35.
- Терновой В. А., Протопопова Е. В., Кононова Ю. В., Ольховикова Е. А., Спиридонова Э. А., Акопов Г. Д., Шестопапов А. М., Локтев В. Б. 2007. Выявление случаев лихорадки Западного Нила в Новосибирской области в 2004 году и генотипирование вируса, вызвавшего заболевания. Вестн. РАМН. 1 : 21—26.
- Тимофеева А. А., Львов Д. К., Громов А. И. и др. 1972. Сложный очаг инфекции на острове Тюлений в Охотском море // Зоол. журн. 51 (6).
- Тимофеева А. А., Львов Д. К., Погребенко А. Г. и др. 1974. Очаговость природных инфекций на острове Ионы в Охотском море // Зоол. журн. 53 (6).
- Ткачев В. А., Ткачев И. В. 1997. О существовании природных очагов клещевого энцефалита на административной территории г. Миасса // Леса Башкортостана: соврем. состояние и перспективы: Матер. науч.-практич. конф. Уфа. 203—205.
- Федоров В. Г., Нестерова И. А., Гордиенко Л. Н. 1999. Иксодовые клещи в Омске и пригородах. Экологический анализ // Зоогигиена, профилактика и терапия болезней с.-х. и мелк. домаш. животных: Матер. науч.-практич. конф., Краснообск, 20 октября 1998. Новосибирск. 31—32.
- Федорова М. В., Лопатина Ю. В., Хуторецкая Н. В., и др. 2004. Изучение фауны кровососущих комаров (DIPTERA, CULICIDAE) г. Волгограда в связи со вспышкой Лихорадки Западного Нила в Волгоградской области в 1999 г. // Паразитология. 38 (3) : 209—217.
- Щелканов М. Ю., Ананьев В. Ю., Львов Д. И. и др. 2007. Комплексный эколого-вирусологический мониторинг на территории Приморского края в 2003—2006 гг. // Вопросы вирусологии. 52(5) : 37—48.
- Anderson J. F., Andreadis T. G., Vossbrinck C. R. et al. 1999. Isolation of West Nile Virus from Mosquitoes, crow, and a Cooper's hawk in Connecticut // Science. 286 : 2331—2333.

- Anderson J. F., Main A. J., Andreadis T. G. et al. 2003. Transstadial transfer of West Nile virus by three species of ixodid ticks (Acari: Ixodidae) // *Journ. Med. Entomol.* 40 (4 -P) : 528–533.
- Bosch I., Herrera F., Navarro J.-C., Lentino M., Dupuis A., Maffei J., Jones M., Fernández E., Pérez N., Pérez-Emán J., Guimarães A.É., Barrera R., Valero N., Ruiz J., Velásquez G., Martínez J., Comach G., Komar N., Spielman A., Kramer L. 2007. West Nile Virus, Venezuela. *Emerg Infect Dis.* 13 : 651–653.
- Burke D.S., Monath T.P. In: *Fields virology* / Ed. by D. M. Knipe, P. M. Howley. 4th ed, Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia, Pa, 2001. P. 1043–1126.
- Calisher C. H., Karabatsos N. 1988. In: *Arbovirus serogroups: definition and geographic distribution.* Eds T. P. Monath. London: CRC Press. 19–57.
- Guthrie A. J., Howell P. G., Gardner I. A. et al. 2003. West Nile virus infection of Thoroughbred horses in South Africa (2000–2001) // *Equine Vet. Journ.* 35 (6) : 601–605.
- Hayes C. G. West Nile fever. In Monath T.P. (ed.). *The arboviruses: epidemiology and ecology.* CRC, Boca Raton, FL. 1: 59–88.
- Hubalek Z., Halouzka J. 1999. West Nile fever — a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5 : 643–650.
- Hurlbut H.S. 1956. West Nile virus infection in arthropods // *Am. Journ. Trop. Med. Hyg.* 5: 76–85.
- Lanciotti R., Roehring J.T., Deubel V. et al. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the north-eastern United States // *Science.* 286 : 2333–2337.
- Lanciotti R. S., Ebel G. D., Deubel V. et al. 2002. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East // *Virology.* 298 (1): 96–105.
- Lawrie C. H., Uzcátegui N. Y., Gould E. A., Nuttall P. A. 2004. Ixodid and argasid tick species and West Nile virus // *Emerg. Infect. Dis.* 10 (4) : 653–657.
- Lvov D. K., Gromashevsky V. L. et al. 2001. Isolation of two strains of West Nile virus during an outbreak in Southern Russia // *Emerg. Infect. Dis.* 6 : 373–376.
- Mackenzie J. S., Smith D. W., Hall R. A. 2003. West Nile virus: is there a message for Australia // *The Med. Journ. of Australia.* 178 (1) : 5–6.
- Morales M. A., Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J. B., Vissani A., Trono K., Gutierrez G., Pigretti S., Menchaca H., Garrido N., Taylor N., Fernandez F., Levis S., Enria D. 2006. West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *J. Clin. Microbiol.* 44 (12) : 1559–1561.
- Reisen W. K., Brault A. C., Martinez V. M. et al. 2007. Ability of transstadially infected *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) to transmit West Nile virus to song sparrows (*Melospiza melodia*) or western fence lizards (*Sceloporus occidentalis*) // *Journ. Med. Entomol.* 44 (2) : 320–327.
- Taylor R. M., Work T. H., Hurlbut H. S., Rizk F. 1956. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt // *Am. Journ. Trop. Med. Hyg.* 5 : 579–620.
- Ternovoy V. A., Kurzhukov G. P., Sokolov Y. V. et al. 2003. Tick-Borne Encephalitis with Hemorrhagic Syndrome, Novosibirsk Region, Russia, 1999 // *Emerg. Inf. Dis.* 9 (6): 743–746.
- Ternovoi V. A., Protopopova E. V., Chaousov E. V. et al. 2007. Novel variant of Tick Borne Encephalitis virus, Russia // *Emerg. Infect. Dis.* 13 (10): 1574–1578.

DETECTION OF THE WEST NILE VIRUS AND ITS GENETIC TYPING IN IXODID TICKS (PARASITIFORMES: IXODIDAE) IN TOMSK CITY AND ITS SUBURBS

N. S. Moskvitina, V. N. Romanenko, V. A. Ternovoi, N. V. Ivanova,
E. V. Protopopova, L. B. Kravchenko, Yu. V. Kononova, V. N. Kuranova,
E. A. Chaousov, S. S. Moskvitin, N. L. Pershikova, S. I. Gashkov,
S. N. Konovalova, N. P. Bolshakova, V. B. Loktev

Key words: West Nile virus, ticks, Tomsk, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes pavlovskyi*, genotyping, RT PCR, enzyme immunoassay.

SUMMARY

Four tick species, *Ixodes persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *I. trianguliceps*, and *Dermacentor reticulatus*, were found in Tomsk and its suburbs in 2006. The species *I. pavlovskyi* was found to be dominant in the localities situated in Tomsk City, and *I. persulcatus* was dominant in its suburbs. Viral RNA and viral antigen of the West Nile virus (WNV) were detected in the ticks *I. pavlovskyi* and *I. persulcatus* collected in the city and its suburbs by the RT PCR method and enzyme immunoassay with monoclonal antibodies against protein E of the WNV. Average rate of the WNV infected ticks varied from 5.2 up to 11.7 % in different localities. Identification of the nucleotide sequence of the protein E gene fragment allowed classifying the cDNA obtained as genotype Ia of the WNV. The sequences are proved similar to the strain LEIV-Vlg99-27889-human of the WNV isolated in Volgograd. The obtained data showed that natural foci of the WNV virus can appear in the city and its suburbs probably involving two dominant tick species. The WNV infected imagoes, larvae, and nymphs of *I. persulcatus* and *I. pavlovskyi* were collected from small mammals, lizards, and birds. Therefore we presume that these hosts can be involved in the circulation and distribution of WNV on the territory of Tomsk Region.
