

С.Е. Ткачев<sup>1</sup>, И.В. Козлова<sup>2,3</sup>, Ю.П. Джигоев<sup>2,3</sup>, М.М. Верхозина<sup>4</sup>, Е.К. Дорощенко<sup>2</sup>,  
О.В. Лисак<sup>2</sup>, О.В. Сунцова<sup>2</sup>, В.И. Злобин<sup>3</sup>, А.И. Парамонов<sup>2</sup>, А.Ю. Тикунов<sup>1</sup>, А.В. Ляпунов<sup>2</sup>,  
Н.В. Тикунова<sup>1</sup>, Д. Ружек<sup>5,6</sup>

## КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ЕВРОПЕЙСКОГО ГЕНОТИПА, ВЫЯВЛЕННЫХ В СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

<sup>1</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

<sup>2</sup> Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

<sup>3</sup> Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

<sup>4</sup> Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области (Иркутск)

<sup>5</sup> Институт паразитологии биологического центра Академии наук Республики Чехия (Ческе-Будевице,  
Республика Чехия)

<sup>6</sup> Научно-исследовательский институт ветеринарии (Брно, Республика Чехия)

*При молекулярно-генетическом анализе 13 штаммов ВКЭ европейского генотипа, выделенных на территории Западной и Восточной Сибири, были выявлены две группы, отличающиеся генетически друг от друга и имеющие высокий уровень гомологии последовательностей гена E внутри каждой группы. Тем не менее, для ряда штаммов наблюдалась гетерогенность биологических свойств внутри одной группы.*

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита, западный генотип, Западная Сибирь, Восточная Сибирь

## BRIEF CHARACTERISTIC OF EUROPEAN GENOTYPE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS IDENTIFIED IN SIBERIAN REGION

S.E. Tkachev<sup>1</sup>, I.V. Kozlova<sup>2,3</sup>, Y.P. Dzhigoev<sup>2,3</sup>, M.M. Verkhovina<sup>4</sup>, E.K. Doroschenko<sup>2</sup>,  
O.V. Lisak<sup>2</sup>, O.V. Suntsova<sup>2</sup>, V.I. Zlobin<sup>3</sup>, A.I. Paramonov<sup>2</sup>, A.Y. Tikunov<sup>1</sup>, A.V. Lyapunov<sup>2</sup>,  
N.V. Tikunova<sup>1</sup>, D. Ruzek<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

<sup>2</sup> Scientific Center for Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk

<sup>3</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk

<sup>4</sup> Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk region, Irkutsk

<sup>5</sup> Institute of Parasitology of Biological Center of Czech Republic Academy of Sciences, Ceske  
Budejovice, Czech Republic

<sup>6</sup> Institute of Veterinary, Brno, Czech Republic

*The molecular-genetic analysis of 13 strains of Western genotype TBEV isolated in Western and Eastern Siberia demonstrated two groups of strains differed genetically from each other and had a high level of E gene sequences homology within each group. Nevertheless, the heterogeneity of biological properties for some strains within a group was observed.*

**Key words:** tick-borne encephalitis virus, gene E genotype Western, Western Siberia, Eastern Siberia

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время выделяют три основных генотипа вируса клещевого энцефалита (ВКЭ): 1) дальневосточный, 2) европейский (или западный), 3) сибирский [8], а также показано, что в Байкальском регионе циркулируют представители еще двух предполагаемых генотипов, прототипами которых являются штаммы 886-84 и 178-79 [1, 2, 3, 4, 7]. Каждый из генотипов вируса обладает собственным ареалом, в пределах которого отмечается его доминирование. Тем не менее, было обнаружено, что ВКЭ европейского генотипа имеет обширнейший ареал – от Европы до Азии. Так, по всей видимости, восточной границей распространения данного генотипа является Южная Корея [9, 13, 14]. Однако высокая миграционная активность населения разных стран также становится одним из возможных путей распространения ВКЭ и в другие регионы мира, не эндемичные для этого вируса [6]. На территории России крайней восточной границей ареала этого генотипа является территория Восточной Сибири (Иркутская область) [4, 5, 7].

С помощью методов молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и секвенирования фрагментов генома ВКЭ на территории Сибири было выявлено 13 штаммов европейского генотипа. Пять из них были изолированы на территории Западной Сибири (Алтайский край), восемь – на территории Восточной Сибири (Иркутская область) [5, 7].

Целью данной работы являлось сравнение генетических и биологических характеристик штаммов вируса клещевого энцефалита европейского генотипа, выявленных на территории Западной и Восточной Сибири.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 13 штаммов из коллекции ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН, г. Иркутск, выделенных на территории Западной (5 штаммов) и Восточной Сибири (8 штаммов).

Образцы суммарных нуклеиновых кислот, выделенных из суспензий мозга зараженных ВКЭ белых мышей наборами «РИБО-преп» («Ампли-прайм, Мо-

Характеристика исследуемых штаммов ВКЭ

Штамм	Год изоляции	Источник изоляции	Место сбора материала
<b>Восточная Сибирь</b>			
118-71	1971	Длиннохвостый суслик ( <i>Spermophilus undulatus</i> )	Иркутская область
126-71	1971	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
134-71	1971	Длиннохвостый суслик ( <i>Spermophilus undulatus</i> )	Иркутская область
163-74	1974	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
262-74	1974	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
272-75	1975	Узкочерепная полевка ( <i>Microtus gregalis</i> )	Иркутская область
898-84	1984	Красная полевка ( <i>Myodes rutilus</i> )	Иркутская область
1G-98	1998	Кровь человека	Иркутская область
<b>Западная Сибирь</b>			
Змеиногорск-1	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-3	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-5	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-7	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-9	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край

сква) использовали для получения кДНК наборами «РевертаЛ» («Ампли-Сенс», ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ). ПЦР проводили с праймерами, соответствующими последовательности гена E ВКЭ западного генотипа. Определение последовательностей полученных продуктов ПЦР проводили с помощью наборов BigDye Terminators Cycle Sequencing Kit v.3.1 (Applied Biosystems, США) с применением автоматического анализатора ДНК модели ABI 3500 (Applied Biosystems, США). Молекулярно-генетический анализ последовательностей осуществляли с использованием программ BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) и MEGA 5 [11].

Нейровирулентность штаммов оценивали путем интрацеребрального титрования вирусосодержащей суспензии. При титровании на животных титры вируса определяли по методу Рида и Менча [10] и выражали в lg ЛД<sub>50</sub>/мл. Для оценки титров вируса при подкожном введении мышей заражали экстраневрально. Индекс инвазивности (ИИ) оценивали как разницу титров вируса при церебральном и подкожном заражении мышей, выраженную в lg ЛД<sub>50</sub>/мл. Значение ИИ в пределах 1–2,5 свидетельствовало о высоких инвазивных свойствах штамма, способности преодолевать гематоэнцефалический барьер, достигать центральную нервную систему и размножаться в ней. Значение ИИ ≥ 3 соответствовало сниженной инвазивной активности штамма.

Для определения способности штаммов ВКЭ к репродукции при супраоптимальной температуре (rct42) использовали метод титрования вируса на культуре клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), инкубируемых при 37 °С или 42 °С, на 6 день после заражения. Определение lg ТЦД<sub>50</sub>/мл проводили по методу Рида и Менча [10]. Rct42-признак определяли по разнице титров вируса при 37 °С и 42 °С; высокое

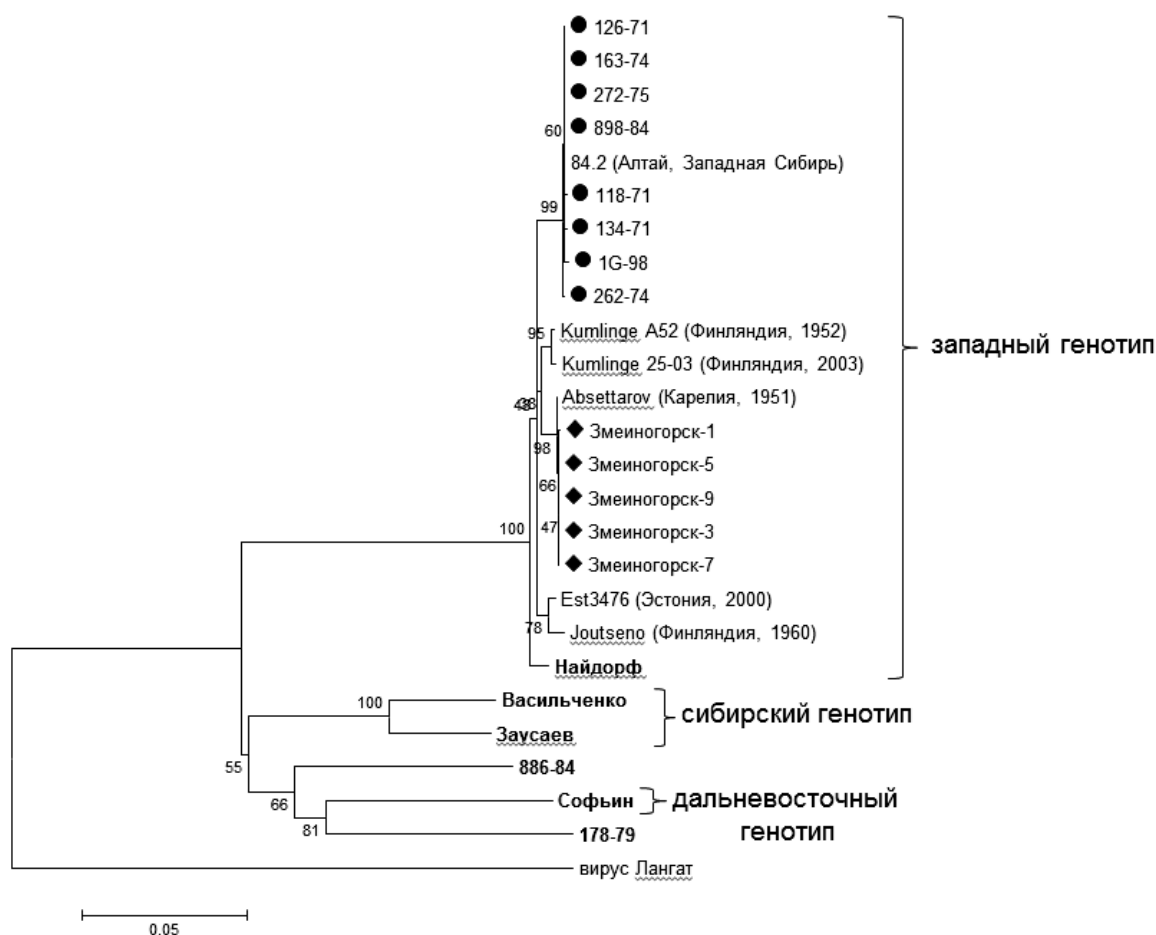
значение признака (+) соответствовало разнице титров вируса ≤ 2,0 lg; среднее значение (±) – от 2,1 до 3,0 lg; (-), соответственно, при ≥ 3,1 lg.

Изучение бляшкообразующей активности (S-признак) проводили путем заражения клеток СПЭВ штаммами ВКЭ, прошедшими не более четырех пассажей через мозг белых мышей. После трехкратного клонирования в культуре клеток СПЭВ наблюдалась деструкция клеток. Бляшки появлялись на 3–4-е сутки, учет проводили на 5-е сутки после заражения, когда бляшки увеличивались в размере и становились более отчетливыми.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ расшифрованных последовательностей гена E показал, что исследуемые штаммы ВКЭ разделяются на две группы, соответствующие ареалам их выделения, при этом внутри каждой из групп наблюдался высокий уровень гомологии последовательностей гена E (> 99 %). При построении филогенетического древа было также показано, что штаммы, выделенные на территории Западной и Восточной Сибири, формируют отдельные кластеры.

Группа штаммов из Западной Сибири показала высокий уровень гомологии (99 %) со штаммами Абсеттаров [GenBank KJ000002.1] (выделен в Карелии в 1951 г.), Kumlinge A52 [GU183380] (Финляндия, 1952), Kumlinge 25-03 [GU183379] (Финляндия, 2003), Est3476 [GU183383] (Эстония, 2000), Joutseno [GU183381] (Финляндия, 1960). Группа, содержащая штаммы из Восточной Сибири, демонстрировала высокий уровень гомологии (99 %) со штаммом 84.2 [HM120875], выделенным ранее на территории Алтая (Западная Сибирь), и 98 % гомологии с другими 17 штаммами ВКЭ, выделенными на территории Финляндии, Эстонии и других стран Европы.



**Рис. 1.** Филогенетическое древо, построенное методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) на основании последовательности гена E ВКЭ. Жирным выделены прототипные штаммы разных генотипов; ● – штаммы, выделенные в Восточной Сибири; ◆ – штаммы, выделенные в Западной Сибири.

Была проведена оценка некоторых фенотипических свойств штаммов европейского генотипа ВКЭ, выявленных на территории Восточной Сибири. Штаммы 1G-98 и 898-84 обладали высокой церебральной и периферической активностью. Так, титры вируса при интрацеребральном заражении составили 8,72 и 9,32 lg ЛД<sub>50</sub>/мл, а при подкожном – 6,35 и 6,9 lg ЛД<sub>50</sub>/мл, что равнялось разнице 2,37 и 2,42 lg ЛД<sub>50</sub>/мл, соответственно. Поэтому эти штаммы обладали хорошими инвазивными свойствами, что свидетельствует об их способности преодолевать гематоэнцефалический барьер. При заражении молодых белых мышей штаммами ВКЭ европейского генотипа в среднем процент летальности составил 95,9 %, средняя продолжительность жизни – 5,5 дней. Определение размера бляшек в культуре клеток СПЭВ показало гетерогенность изученных штаммов по данному маркеру. Штаммы 134-71 и 272-75 формировали мелкие и среднего размера (d = 1,5–2,0 мм) бляшки, в то время как штаммы 118-71 и 898-84 формировали крупные бляшки (d = 3,5–5,0 мм). Для пяти штаммов были определены генетические маркеры rct<sub>37</sub> и rct<sub>42</sub>. Четыре из изученных штаммов хорошо размножались на культуре клеток СПЭВ как при температуре 37 °С, так при 42 °С, что свидетельствует об их хороших адаптивных способностях.

На сегодняшний день в базе данных GenBank депонированы нуклеотидные последовательности гена E 181 штамма (или изолятов РНК) ВКЭ европейского генотипа, выделенных на территории 18 европейских стран, а также Южной Кореи. В нашей работе мы впервые определили последовательности гена E 13 штаммов ВКЭ европейского генотипа, выделенных в Западной и Восточной Сибири, с последующим молекулярно-генетическим анализом.

Были выявлены две группы штаммов, кластеризующихся по месту выделения, причем внутри каждой из групп наблюдался высокий уровень гомологии (>99 %) нуклеотидных последовательностей, что, вероятно, свидетельствует о крайне высокой консервативности последовательности гена E у ВКЭ европейского генотипа вне зависимости от источника выделения (клещи, мелкие млекопитающие, кровь человека). Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными. Так, при анализе последовательностей геномов штаммов ВКЭ, выделенных в Центральной Европе, была показана стабильность генома европейского генотипа [12]. Также, при сравнительном анализе кодирующей части полногеномных последовательностей ВКЭ из GenBank, было обнаружено, что штаммы европейского генотипа, по сравнению с представителями

дальневосточного и сибирского генотипов, характеризуются наиболее высокими уровнями гомологии как нуклеотидных, так и аминокислотных последовательностей внутри одного генотипа, т.е. наименьшим уровнем различий [2, 7, 14]. Более того, следует отметить, что представители каждой из выявленных групп исследуемых штаммов ВКЭ с территориями Западной или Восточной Сибири обладали высокой степенью гомологии со штаммами, выделенными на территории Западной Европы, что также может служить доказательством высокой консервативности последовательности гена E.

ВКЭ европейского генотипа имеет обширный ареал и циркулирует в экосистемах, значительно различающихся, в том числе, и основными переносчиками и резервуарными хозяевами. Основным переносчиком европейского генотипа ВКЭ считались клещи *I. ricinus*, но, по всей видимости, в Азиатской части России его переносчиком может служить и *I. persulcatus*. Ранее, на территории Европы ВКЭ европейского генотипа был изолирован из *Myodes glareolus*, *Apodemus sylvaticus*, *Sciurus vulgaris*, а на территории Южной Кореи выделен из *Apodemus agrarius*. В нашей работе, на территории Восточной Сибири штаммы ВКЭ европейского генотипа были впервые изолированы из *Spermophilus undulatus*, *Microtus gregalis* и *Myodes rutilus*.

Тем не менее, несмотря на высокий уровень гомологии последовательностей гена E, наблюдается гетерогенность биологических свойств для ряда штаммов даже внутри одной группы, которые, вероятно, связаны с различиями в других областях генома. В связи с этим, большой научный интерес представляет сравнительный анализ генетических и биологических свойств штаммов ВКЭ европейского субтипа, изолированных в удаленных друг от друга точках ареала, существенно отличающихся биоценотической структурой природных очагов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №14-15-00615.

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Верхозина М.М. и др. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов возможный сценарий их формирования // Вопросы вирусологии. – 2012. – № 4. – С. 13–19.

Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Verkhozina M.M. et al. Genotypes 4 and 5 of encephalitis virus: structural features of genomes and possible scenario of their formation // Voprosi Virusologii. – 2012. – N 4. – P. 13–19. (in Russian)

2. Злобин В.И., Шаманин В.А., Дрокин Д.А., Джиоев Ю.П., и др. Географическое распространение генетических вариантов вируса клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии. – 1992. – № 5–6. – С. 252–256.

Zlobin V.I., Shamanin V.A., Drokin D.A., Dzhioev Yu.P. et al. Geographic distribution of genetic variants of tick-borne encephalitis virus // Voprosi Virusologii. – 1992. – N 5–6. – P. 252–256. (in Russian)

3. Злобин В.И., Мамаев Л.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В. Генетические типы вируса клещевого энцефалита // Журнал инфекционной патологии. – 1996. – Т. 3, № 4. – С. 13–17.

Zlobin V.I., Mamaev L.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V. Genetic types of tick-borne encephalitis virus // Zhurnal Infektsionnoy Patologii. – 1996. – Vol. 3, N 4. – P. 13–17. (in Russian)

4. Козлова И.В., Верхозина М.М., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., и др. Результаты генотипирования штаммов и изолятов РНК вируса клещевого энцефалита, выделенных от больных людей в Иркутской области и Республики Бурятия // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5, Ч. 1. – С. 231–235.

Kozlova I.V., Verkhozina M.M., Doroshchenko E.K., Lisak O. et al. Results of genotyping strains and isolates of encephalitis virus RNA isolated from human patients in Irkutsk region and Republic of Buryatia // Bull. VSNC SO RAMN. – 2012. – № 5, Part 1. – P. 231–235. (in Russian)

5. Козлова И.В., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Джиоев Ю.П. и др. Видовое и генетическое разнообразие возбудителей клещевых инфекций на территории Восточной Сибири // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2, Ч. 2. – С. 75–83.

Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Dzhioev Yu.P. et al. Species and genetic diversity of pathogens tick-borne infections in Eastern Siberia // Bull. VSNC SO RAMN. – 2012. – N 2, Part 2. – P. 75–83. (in Russian)

6. Chaudhuri A.I., Růžek D. First documented case of imported tick-borne encephalitis in Australia // Intern. Med. J. – 2013. – Vol. 43 (1). – P. 93–96.

7. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V. et al. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes // Journal of Medical Virology. – 2010. – Vol. 82. – P. 965–976.

8. Ecker M., Allison S.L., Meixner T., Heinz F.X. Sequence analysis and genetic classification of TBEV from Europe and Asia // J. Gen. Virol. – 1999. – Vol. 80. – P. 179–185.

9. Kim S.Y., Yun S.M., Han M.G., Lee I.Y. et al. Isolation of tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2008. – Vol. 8, N 1. – P. 7–13.

10. Reed L., Muench H.A. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // Am. J. Hyg. – 1938. – N 27. – P. 493–497.

11. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G. et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution // Mol. Biol. Evol. – 2011. – Vol. 28, N 10. – P. 2731–2739.

12. Weidmann M., Frey S., Freire C.C., Essbauer S. et al. Molecular phylogeography of tick-borne encephalitis virus in central Europe // J. Gen. Virol. – 2013. – Vol. 94. – P. 2129–2139.

13. Yun S.M., Kim S.Y., Han M.G. et al. Analysis of the envelope (E) protein gene of tick-borne encephalitis viruses isolated in South Korea // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2009. – Vol. 9, N 3. – P. 287–293.

14. Yun S.M., Song B.G., Choi W., Park W.I. et al. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ixodid ticks

collected from the republic of Korea during 2011–2012 // Osong Public Health Res. Perspect. – 2012 Dec. – Vol. 3 (4). – P. 213–221.

**Сведения об авторах**

**Ткачев Сергей Евгеньевич** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, проспект Лаврентьева, 8; тел.: 8 (383) 363-51-37; e-mail: tkachev@niboch.nsc.ru)

**Козлова Ирина Валерьевна** – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

**Джиоев Юрий Павлович** – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории научно-исследовательского института биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета Минздрава России, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: alanir07@mail.ru)

**Верхозина Марина Михайловна** – кандидат биологических наук, биолог микробиологической лаборатории вирусологического отделения ПЦР-лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии в Иркутской области (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

**Дорощенко Елена Константиновна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru)

**Лисак Оксана Васильевна** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: lisak.liza@rambler.ru)

**Сунцова Ольга Владимировна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: olga\_syntsova@list.ru)

**Злобин Владимир Игоревич** – академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Минздрава России, директор Научно-исследовательского института биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: vizlobin@mail.ru)

**Парамонов Алексей Игоревич** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: paramonov\_a.i@mail.ru)

**Тикуннов Артем Юрьевич** – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

**Ляпунов Александр Валерьевич** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: liapunov.asp@mail.ru)

**Тикуннова Нина Викторовна** – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

**Ружек Даниел** – доктор медицины Института ветеринарии (CZ-63100, Республика Чехия, г. Брно, ул. Худкова, 70), Института паразитологии Биологического центра академии наук Республики Чехия (CZ-37005, ул. Бранисовска, 31; e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

**Information about the authors**

**Tkachev Sergey Evgenievich** – Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk (630090, prospekt Lavrentieva, 8; tel.: (383) 363-51-37; e-mail: tkachev@niboch.nsc.ru)

**Kozlova Irina Valerievna** – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

**Dzhioev Yuriy Pavlovich** – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology of Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University, Senior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

**Verkhovina Marina Mihailovna** – Candidate of Biological Sciences, Biologist of Microbiology Laboratory of Virology Department of the PCR Laboratory of the Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk Region (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

**Doroshchenko Elena Konstantinovna** – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

**Lisak Oksana Vasilyevna** – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

**Suntsova Olga Vladimirovna** – Candidate of Biological Sciences of Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

**Zlobin Vladimir Igorevich** – Academician of Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Biomedical Technology of Irkutsk State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)

**Paramonov Alexey Igorevich** – Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: paramonov\_a.i@mail.ru)

**Tikunov Artyom Yuryevich** – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Microbiology Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS

**Lyapunov Alexander Valeryevich** – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer, Laboratory of Transmissible Infections of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: liapunov.asp@mail.ru)

**Tikunova Nina Viktorovna** – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS

**Ruzek Daniel** – M.D., Institute of Veterinary Medicine (CZ-63100, Czech Republic, Brno, Hudkova str., 70), Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic (CZ-37005, Branisovska str., 31; e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)