

На правах рукописи

ЧИЧЕРИНА ГАЛИНА СЕРГЕЕВНА

**РОЛЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ИКСОДОВЫХ
КЛЕЩЕЙ В ПОДДЕРЖАНИИ АНТРОПУРГИЧЕСКОГО ОЧАГА
КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ЛЕСОПАРКОВОЙ ЗОНЕ
НОВОСИБИРСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА**

03.02.04 – зоология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2016

Работа выполнена в лаборатории патологии насекомых Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Бахвалова Валентина Николаевна

Официальные оппоненты: **Якименко Валерий Викторович**,
доктор биологических наук,
ФБУН "Омский НИИ природно-очаговых инфекций" Роспотребнадзора,
зав. лабораторией арбовирусных инфекций
отдела природно-очаговых вирусных инфекций

Иванова Надежда Викторовна,
кандидат биологических наук,
Томский сельскохозяйственный институт –
филиал ФГБОУ ВО Новосибирского ГАУ,
доцент кафедры

Ведущая организация: ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, г. Иркутск

Защита состоится « » _____ 2016 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 003.033.01 при Институте систематики и экологии животных СО РАН по адресу: 630 091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11. Факс: +7 (383) 2170 973, e-mail: dis@eco.nsc.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Института систематики и экологии животных СО РАН и на сайте www.eco.nsc.ru

Автореферат разослан « » _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Петрожицкая Людмила
Владимировна

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), являясь возбудителем трансмиссивной инфекции, вызывает у человека заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией и поражением центральной нервной системы (Аитов и др., 2007).

На территории России циркулируют три основных, широко распространенных генетических типа ВКЭ: дальневосточный (ДВ), сибирский (Сиб) и европейский (Евр) (Погодина и др., 1981; Esker, 1999; Вотяков и др., 2000). Летальность и частота персистентных форм инфекции существенно отличаются у разных генотипов ВКЭ. Существует утверждение, что инфекция КЭ сибирского типа чаще других генотипов вируса переходит в хроническую форму (Gritsun et al., 2003). Каждый из генотипов вируса, как правило, доминирует на определенной территории, где в тоже время могут циркулировать минорные генетические типы, в связи с чем ареалы генотипов перекрываются (Верхозина и др., 2007; Андаев и др., 2012; Сидорова и др., 2012; Mikryukova et al., 2014). Считается, что существование минорных генотипов ВКЭ вызвано мутациями, а циркуляция политипových вариантов обусловлена взаимодействием генотипов вируса между собой (Погодина и др., 2007; 2012; Norberg et al., 2013). В последнее время получены данные о смене доминирующих генотипов ВКЭ в ряде регионов (Погодина и др., 2005; Локтев, 2007; Чаусов, 2009). Спектр генотипов, их соотношение и взаимодействие в природных очагах, а также биологические свойства вируса на эндемичных территориях имеют большое значение в области здравоохранения.

Ранее были описаны два типа ВКЭ, для которых основными резервуарами являются иксодовые клещи: лесной *Ixodes ricinus* L., 1759 (европейский или «рицинусный» субтип) и таежный *Ixodes persulcatus* P. Sch., 1930 (дальневосточный или «персульткатусный» субтип) (Holzmann et al., 1992). В отличие от лесного клеща, обитающего в Европе и европейской части России, таежный клещ многочислен на остальной территории нашей страны, и в частности, в лесостепном Приобье Новосибирской области (Сапегина и др., 1985; Коренберг, 1989). В последние годы в городских и пригородных биотопах Новосибирска и Томска отмечен значительный рост численности филогенетически близкого таежному клещу вида – клеща Павловского *I. pavlovskyi* Pom., 1946 (Романенко, 2009; Bakhvalova et

al., 2011; Бахвалова и др., 2013; Якименко и др., 2013; Чичерина и др., 2015). Круг хозяев таежного клеща в целом по ареалу насчитывает около 200 млекопитающих и более 120 видов птиц, случайными хозяевами могут служить рептилии и амфибии. В Западной Сибири в качестве хозяев клеща Павловского зарегистрировано 19 видов млекопитающих и 22 вида птиц. Основными хозяевами имаго таежного клеща служат, в основном, средние и крупные млекопитающие (у клеща Павловского, в основном, птицы), для преимагинальных фаз обоих видов – мелкие млекопитающие, которым исследователи отводят роль одного из основных факторов устойчивости очага КЭ (Чунихин, 1990; Коренберг, 2003), и птицы.

Значительно возросшая в последнее десятилетие численность иксодовых клещей на территории лесопарка Новосибирского научного центра (ННЦ), а также изменение в структуре доминирования сообщества (становление содоминантом *I. pavlovskyi*) могут приводить к изменению в структуре антропоургического очага КЭ. В связи с этим требуется уточнение видового состава прокормителей преимаго иксодид из числа мелких млекопитающих, которые являются резервуарными хозяевами вируса КЭ. Необходимо выяснить, как повлияют изменения, произошедшие в паразитарной системе КЭ, на фенетические и генетические свойства вируса.

Степень разработанности темы. Следует отметить, что существует большое количество работ, посвященных изучению компонентов природных очагов КЭ. Мониторинг паразитарной системы антропоургического очага КЭ на территории ННЦ ведется сотрудниками ИСиЭЖ СО РАН более 30 лет. За этот период был изучен видовой состав беспозвоночных и позвоночных резервуарных хозяев вируса КЭ. Спонтанную зараженность таежного клеща исследовали, в основном, методом биологической пробы на мышах, что позволяло выделять только патогенные варианты ВКЭ.

Наша работа направлена на изучение трансформации структуры сообщества иксодовых клещей, оценки изменения роли участия в прокормлении личинок и нимф из числа мелких млекопитающих, а также на комплексное: вирусологическое, серологическое и молекулярно-генетическое изучение фенетических и генетических свойств вируса КЭ в естественных условиях в случае двух типов резервуарных хозяев.

Таким образом, **цель** настоящей работы: оценка изменения роли иксодовых клещей и их прокормителей из числа мелких

млекопитающих в поддержании природного очага КЭ на территории Новосибирского научного центра в современный период.

Для достижения данной цели были поставлены **задачи**:

1. Провести анализ динамики численности и биотопической приуроченности двух видов иксодовых клещей в антропоургическом очаге;
2. Проанализировать динамику численности мелких млекопитающих с оценкой их участия в прокормлении преимагинальных фаз иксодовых клещей;
3. Исследовать спонтанную зараженность вирусом клещевого энцефалита голодных имаго *I. persulcatus* и *I. pavlovskiyi* с помощью комплекса вирусологических, серологических и молекулярно-генетических методов;
4. Комплексно изучить спонтанную зараженность вирусом клещевого энцефалита массовых видов мелких млекопитающих;
5. Изучить роль красной полевки и полевой мыши в селекции отдельных генотипов вируса клещевого энцефалита после экспериментального заражения клещевыми суспензиями, содержащими вирус клещевого энцефалита сибирского и дальневосточного генотипов.

Научная новизна. На территории лесопарка ННЦ проведен анализ распределения двух видов иксодовых клещей по биотопам. В связи с изменением структуры сообщества иксодовых клещей уточнен видовой состав их прокормителей (мелких млекопитающих). Продолжено изучение спонтанного вирусоносительства КЭ иксодид и мелких млекопитающих с применением современных молекулярно-генетических методов. Установлена циркуляция трех генетических типов ВКЭ: Сиб-ВКЭ, ДВ-ВКЭ и Евр-ВКЭ в виде моно- и смешанной инфекции. Экспериментальное исследование на фоновых видах млекопитающих (красной полевки и полевой мыши) показало, что при одновременном введении двух генетических типов Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ их совместное присутствие в положительных пробах крови, головного мозга и селезенки было крайне редким. Чаще всего в таких пробах детектировали только один генотип РНК ВКЭ. Генетический состав ВКЭ претерпевал перестройки в зависимости от характера инфекции, а также от видовой принадлежности хозяина.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты, полученные в данной работе, важны не только для адекватного представления об естественной генетической вариабельности и фундаментальных закономерностях эволюции ВКЭ, но и необходимы для решения практических вопросов, связанных с диагностикой и профилактикой инфекции ВКЭ в медицине.

Положения, выносимые на защиту.

1. Значительно возросшая в последнее десятилетие численность иксодовых клещей на территории лесопарка ННЦ, а также становление содоминантом *I. pavlovskyi* привело к изменению состава прокормителей клещей: помимо красной полевки и обыкновенной бурузубки основным прокормителем становится полевая мышь.
2. При спонтанной инфицированности антиген Е, РНК и патогенный для лабораторных мышей вирус КЭ чаще встречается у *I. pavlovskyi*, тогда как у *I. persulcatus* чаще встречается только РНК ВКЭ. У красной полевки достоверно чаще детектировали антиген Е, РНК и патогенный для лабораторных животных вирус КЭ, чем у полевой мыши.
3. Анализ генетического состава РНК вируса клещевого энцефалита в период персистентной инфекции показал возможное действие селективного отбора дальневосточного генотипа ВКЭ у красной полевки и не выявил такового у полевой мыши.

Степень достоверности результатов. Для определения достоверности результатов работы использованы современные методы подготовки образцов. Используемая для проведения исследований методическая база соответствует поставленным задачам. Для статистической обработки полученного материала применены корректные статистические методы анализа.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях: Первая Всероссийская молодежная научная конференция, посвященная 125-летию биологических исследований в ТГУ «Фундаментальные и прикладные аспекты современной биологии» (г. Томск, 2010); XV Симпозиум с международным участием «Сложные системы в экстремальных

условиях» (г. Красноярск, 2010); Научная конференция «Фундаментальные науки – медицине» (г. Новосибирск, 2010); 8-е Межрегиональное совещание энтомологов Сибири и Дальнего Востока с участием зарубежных ученых (г. Новосибирск, 2010); Международная конференция «Развитие научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями» (г. Санкт-Петербург, 2010); VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика–2010» (г. Москва, 2010); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современные аспекты природной очаговости болезней» (г. Омск, 2011); X съезд Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Итоги и перспективы обеспечения эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации» (г. Москва, 2012); Первая Всероссийская конференция «Гетерогенность популяций бактерий и вирусов и ее отражение в эпидемиологии и клинике инфекционных болезней» (г. Владивосток, 2013); Международная научная конференция, посвященная 135-летию Томского Государственного университета, 125-летию кафедры зоологии позвоночных и экологии и Зоологического музея и 20-летию научно-исследовательской лаборатории биоиндикации и экологического мониторинга ТГУ (г. Томск, 2013); Международная научная конференция «Актуальные аспекты природной очаговости болезней, посвященная 75-летию теории академика Е. Н. Павловского о природной очаговости болезней» (г. Омск, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 4 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК; 10 – в материалах международных конференций; 5 – в журналах и республиканских сборниках научных статей, материалах Всероссийских и межрегиональных научных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, трех глав собственных результатов, заключения, выводов и списка использованной литературы (154 отечественных и 36 зарубежных источников). Объем рукописи составляет 113 страниц машинописного текста и включает 9 таблиц и 9 рисунков.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю – к.б.н., с.н.с. лаборатории патологии

насекомых ИСиЭЖ СО РАН В.Н. Бахваловой; д.б.н., О.В. Морозовой (ФГБУ НИИ вирусологии им. И. Ивановского Минздрава РФ); д.б.н., профессору В.Н. Романенко (ФГБОУ высшего профессионального образования «Национальный исследовательский ТГУ»); к.б.н., с.н.с. лаборатории экологии сообществ позвоночных животных В.В. Панову; н.с. лаборатории структуры и динамики популяций животных О.Ф. Потаповой.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данной главе на основании анализа 190 отечественных и зарубежных публикаций освещается состояние изученности поставленных в работе вопросов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Методы исследования

2.1.1 Зоолого-паразитологические методы. Учет численности и сбор имаго иксодовых клещей осуществляли по стандартной методике (на флаг) (Таежный клещ ..., 1985). Относительный показатель численности (обилие клещей) выражали числом особей, собранных на флаг на 1 км учетного маршрута (экз./флаго-км). Для расчета качественных критериев оценки численности иксодид приведено ранжирование количественных рядов данных по обилию имаго клещей с использованием градационной шкалы. Видовую принадлежность определяли по морфологическим признакам (Филиппова, 1977).

Учет численности преимаго иксодид проводили на мелких млекопитающих путем очесывания животных, отловленных ловушко-линиями с использованием трапиковых ловушек Шермана, расставленных по стандартной методике (Таежный клещ..., 1985; МУ 3.1.3012-12, 2011; Якименко и др., 2013). Определение вида, пола и возрастных групп осуществляли общепринятыми методами (Тупикова, 1964; Жмаева и др., 1964; Наумов, 1965; Карасева и Телицина, 1996; МУ 3.1.1029-01, 2001).

Вклад конкретного вида мелких млекопитающих в прокормление преимаго клещей осуществляли с помощью индексов: обилия (Ио, экз.), встречаемости (Ив, экз.), прокормления (Ипп, экз.) (Беклемишев, 1961; Богданов, 1990; Бугмырин и др., 2009; Якименко и др., 2013).

2.1.2. *Вирусологические методы.* Индивидуальные пробы клещей и органы диких млекопитающих (головной мозг, селезенка) готовили в виде 10% суспензии. В качестве отрицательного контроля использовали 10% суспензию органов интактных нелинейных лабораторных мышей (НЛМ), положительного контроля – гомогенаты органов НЛМ, зараженных штаммами ВКЭ. Аликвоты суспензий до исследования хранили при -70°C .

Полученные биологические образцы исследовали методом биологической пробы на 6–7 г НЛМ путем интрацеребрального или комплексного (интрацеребрального и подкожного) введения исследуемого образца по 0,03 мл и 0,03 мл + 0,25 мл соответственно. Период наблюдения за развитием клинических проявлений энцефалита у зараженных мышей составлял 21 день.

Для выявления в крови вируснейтрализующих антител (ВН АТ) к ВКЭ использовали метод биологической нейтрализации на 6–7 г НЛМ (Clarke, Casals, 1958).

2.1.3. *Иммунологические и серологические методы.* Индикацию антигена Е ВКЭ осуществляли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с применением тест-системы «ВектоВКЭ-антиген-стрип» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) согласно инструкции.

Для выявления гемагглютинирующего антигена (ГА АГ) ВКЭ применяли реакцию гемагглютинации (РГА); специфичность подтверждали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с типоспецифической сывороткой (Clarke, Casals, 1958).

Наличие антигемагглютинирующих антител (АГА АТ) к ВКЭ в крови мелких млекопитающих также детектировали в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) (Clarke, Casals, 1958).

2.1.4. *Молекулярно-генетические методы.* Выделение суммарной РНК проводили методом горячей депротенинизации фенол-хлороформом (Chomczynski, Sacchi, 1987).

Для получения кДНК применяли обратную транскрипцию (ОТ) с использованием набора «РевертаЛ» согласно инструкции производителя («АмплиСенс», ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ).

Выявление РНК ВКЭ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов в режиме реального времени (РВ) и индикацией результатов по конечной точке с праймерами и зондами, соответствующими гену NS1 ДВ-ВКЭ, Сиб-

ВКЭ и Евр-ВКЭ, и двухраундовой ОТ-ПЦР с детекцией результатов в агарозном геле с праймерами, специфичными для гена E ВКЭ.

Работу с клещами и дикими млекопитающими проводили при соблюдении санитарно-эпидемиологических правил: СП 1.3.3118-13 «Безопасность по работе с микроорганизмами I–II групп патогенности»; СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней» в редакции постановлений главного государственного санитарного врача РФ от 02.06.2009 № 42 и от 29.06.2011 № 86.

2.1.5. Статистический анализ. Для статистической обработки данных использовали редактор таблиц *Microsoft Excel for Windows*. Сравнение выборочных долей проводили по t-критерию Стьюдента (Лакин, 1980). Определение средних геометрических титров (СГТ) антител проводили с помощью вычисления антилогарифма от средних значений десятичных логарифмов обратных значений титров в соответствии с указаниями (Ашмарин, Воробьев, 1962). Уровень значимости различий $p < 0,05$.

При экспериментальном моделировании селективного отбора генотипов КЭ красной полевкой и полевой мышью зверьков инфицировали подкожно по 2,92 Ig LD_{50/0,25} вируссодержащей суспензией, приготовленной из спонтанно инфицированных клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, в которой предварительно был установлен генотипический состав РНК ВКЭ: Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ.

Содержание, кормление, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

2.2. Материалы исследования

2.2.1. Зоолого-паразитологические исследования. Часть данных для зоолого-паразитологических исследований была любезно предоставлена Пановым В.В. Сбор клещей и мелких млекопитающих осуществляли на территории лесопарка ННЦ. Суммарная протяженность учетных маршрутов за изучаемый период (2006–2014

гг.) составила около 400 км; видовая принадлежность определена для 4000 экз. иксодид.

Обработано 16461 цилиндро-суток для учета численности зверьков и 48536 ловушко-суток для паразитологических исследований. Вклад в прокормление преимаго иксодид оценивался по результатам анализа 2485 особей мелких млекопитающих, с которых методом очесывания было собрано 10095 экз. личинок и 1934 экз. нимф.

2.2.2. *Иммунологические и серологические исследования.* На наличие антигена Е ВКЭ было исследовано 1514 экз. *I. pavlovskyi* и 1146 экз. *I. persulcatus*. После интрацеребрального введения клещевых суспензий на наличие антигена Е ВКЭ методами ИФА и РГА с подтверждением результата РГА в РТГА исследовали 917 образцов головного мозга нелинейных лабораторных мышей (НЛМ).

На наличие антигена Е ВКЭ было исследовано: 59 ос. красной полевки и 79 ос. полевой мыши. После интрацеребрального или комплексного заражения НЛМ суспензией органов диких зверьков (головного мозга или селезенки) провели детекцию антигена Е ВКЭ в 112 особях НЛМ.

Наличие вирусспецифичных АГА АТ определили с помощью РТГА в пробах крови красной полевки (195 ос.) и полевой мыши (246 ос.).

2.2.3. *Вирусологические и молекулярно-генетические исследования.* Молекулярно-генетическими методами исследовано 1149 образцов клещевых суспензий.

Детекция и генотипирование РНК ВКЭ посредством двухраундовой ОТ-ПЦР или ОТ-ПЦР РВ проведены для 57 образцов головного мозга НЛМ, положительных в ИФА и/или биологической пробе.

Для удобства интерпретации полученных данных выделенные изоляты ВКЭ условно разделили на биологические и изоляты РНК. Биологический изолят ВКЭ – выделенный из биологического объекта (НЛМ, 6 – 7 г) после интрацеребрального введения биологического образца (клещевая суспензия, суспензия головного мозга или селезенки диких млекопитающих, головного мозга биопробных НЛМ). Изолят РНК ВКЭ – выделенный методом полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией.

Детекция РНК ВКЭ методом двухраундовой ОТ-ПЦР проведена для 59 ос. красной полевки, 79 ос. полевой мыши. Генотипирование РНК ВКЭ методом ОТ-ПЦР РВ провели у 21 ос. красной полевки и у 12 ос. полевой мыши.

Методом биологической пробы (комплексное заражение – введение клещевой или органной суспензии интрацеребрально и подкожно) на детенышах НЛМ трехдневного возраста была исследована зараженность 14 особей диких зверей и на детенышах 14-дневного возраста – 98 особей.

Молекулярное типирование РНК ВКЭ проведено для 64 особей НЛМ, зараженных суспензиями органов диких млекопитающих, независимо от наличия клинических признаков КЭ.

2.2.4. Детекция ВКЭ и противовирусных антител в лабораторном эксперименте в процессе персистенции возбудителя в организме естественных хозяев. Экспериментальное заражение диких млекопитающих проводили путем подкожного введения клещевой суспензии. Перед введением определяли количество инфекционного вируса КЭ в суспензии путем интрацеребрального (0,03 мл) и подкожного (0,25 мл) заражения 6–8 г НЛМ. Титр вируса исчисляли по методу Рида и Менча (Reed, Meunch, 1938) и выражали в $lgLD_{50}$.

Красных полевок (n=36) и полевых мышей (n=30), отловленных на территории лесопарка ННЦ в осенний период, содержали в индивидуальных клетках. Через 30 суток у них прижизненно брали кровь для исследования на наличие ВН и АГА АТ.

Через 2, 4, 8, 16, 30, 60, 90 и 120 суток после подкожного заражения у всех диких мелких млекопитающих получали образцы крови из ретроорбитального синуса для исследования на наличие ВН и АГА АТ.

При финальном сборе крови после эвтаназии из головного мозга и селезенки готовили 10% суспензии для вирусологических, иммунологических и молекулярно-генетических исследований.

Биопроба была проведена для 66 особей НЛМ, зараженных интрацеребрально суспензиями органов диких зверьков.

Генотипирование РНК ВКЭ посредством ОТ–ПЦР РВ была проведена до и после заражения клещевой суспензией в 64 образцах крови животных.

2.3. Природно-географическая характеристика территории исследования

Неоднородность рельефа территории лесопарка ННЦ обуславливает различия в почвенно-растительном покрове, которые в свою очередь влияют на гигротермические условия припочвенного слоя. Участки сбора объектов исследования указаны на рис. 1.



Рисунок 1. Участки сбора имаго пастбищных иксодовых клещей и отлова мелких млекопитающих. Участки № 1, 2 – регулярный сбор клещей и отлов мелких млекопитающих; № 3, 4 – дополнительные участки сбора клещей.

Глава 3. ЧИСЛЕННОСТЬ И ВИРУСОФОРНОСТЬ ВКЭ *IXODES PERSULCATUS* И *IXODES PAVLOVSKYI* В АНТРОПУРГИЧЕСКОМ ОЧАГЕ

3.1. Динамика численности сообщества иксодид

Многолетний мониторинг паразитарной системы КЭ на территории ННЦ сотрудники ИСиЭЖ СО РАН проводили на двух регулярных маршрутах, проходящих в сосновом ленточном бору (уч. № 1) и в разреженном мелколиственном березовом лесу с примесью осины (уч. № 2). С 2006 г. для изучения численности и видового состава пастбищных иксодовых клещей были введены еще два маршрута, проходящих в мелколиственном березово-осиновом лесу (уч. № 3) и в сосновом бору с примесью березы и осины (уч. № 4).

В целом по изучаемой территории с начала проведения учетов и по 2005 г. включительно среднесезонная численность имаго

иксодовых клещей составила 11,5 экз./флаго-км (от 4,4 до 18,6 экз./флаго-км). Однако с 2005 г. отмечено достоверное ($p < 0,05$) увеличение численности клещей. По усредненным данным за 2006–2014 гг. среднесезонная численность составила 41,9 экз./флаго-км (от 21,8 до 61,1 экз./флаго-км) (рис. 2).

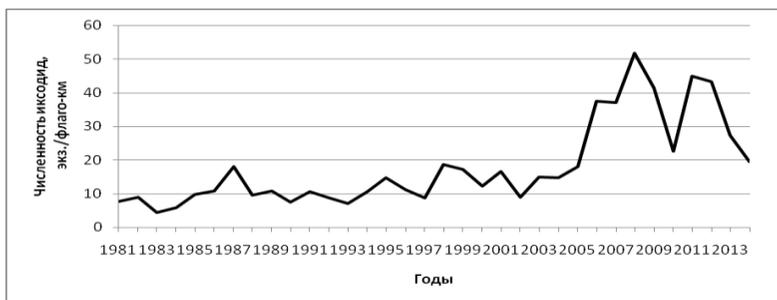


Рисунок 2. Многолетняя среднесезонная динамика численности пастбищных иксодовых клещей на территории лесопарка ННЦ.

На основании полученных данных, проанализированных с использованием градационной шкалы (см. главу 2, стр. 47), выявили, что численность пастбищных иксодовых клещей на территории лесопарка ННЦ в 1981–2005 гг. варьировала от средней до высокой, а с 2005 г. увеличилась от высокой до очень высокой.

Известно, что в лесных биотопах северной части лесостепи правобережного Приобья, в том числе и в лесопарке ННЦ, абсолютно доминирует таёжный клещ *I. persulcatus* (Добротворский и др., 1994). В последние десять лет в городских и пригородных биотопах г. Новосибирска (Ливанова и др., 2011; Чичерина и др., 2011; Якименко и др., 2013; Бахвалова и др., 2015; Чичерина и др., 2015) отмечена экспансия клеща Павловского *I. pavlovskyi*, ранее регистрируемого здесь в единичных экземплярах (Богданов, 2006). Это соответствует резкому всплеску суммарной численности иксодид (рис. 2), что дает основание предполагать, что существенный вклад в суммарную численность переносчиков на исследуемой территории вносит клещ *I. pavlovskyi*.

3.1.1. Показатели численности и биотопические особенности распределения пастбищных иксодовых клещей на территории ННЦ

В целом на изучаемой территории *I. pavlovskyi* из некогда малочисленного вида становится содоминирующим, составляя в сборах от $60,6 \pm 1,5\%$ до $82,5 \pm 0,9\%$. В наблюдаемый период вид стал абсолютным доминантом на участках № 1, № 2, № 3 (рис. 3).

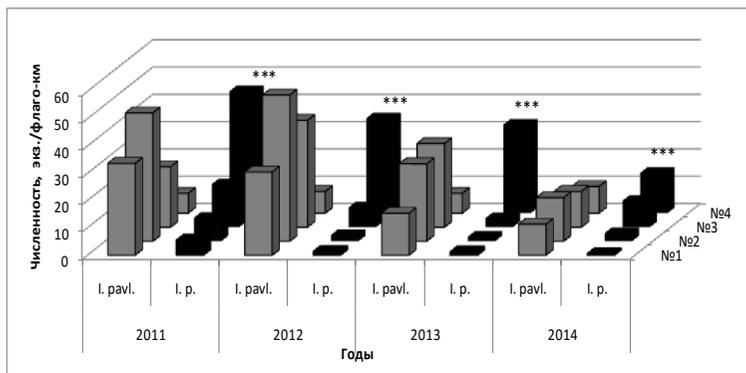


Рисунок 3. Динамика численности и соотношение долей (%) в сообществе иксодид *I. persulcatus* (*I.p.*) и *I.pavlovskyi* (*I.pavl.*) в лесопарке ННЦ (2011–2014 гг.). *** – ($p < 0,001$) преобладание в сборах *I. persulcatus* (*I.p.*) на уч. № 4 в отличие от уч. № 1, № 2 и № 3.

Анализ ранее полученных в ИСиЭЖ СО РАН и собственных данных по численности иксодовых клещей на территории лесопарка ННЦ показывает, что основную массу клещей на двух регулярных маршрутах составляют *I. pavlovskyi*, численность которых по усредненным данным в 2011–2014 гг. была $29,6 \pm 0,4$ экз./флаго–км (от 13,7 до 42,1 экз./флаго–км). Численность *I. persulcatus* составила $5,4 \pm 0,1$ экз./флаго–км (от 1,5 до 7,1 экз./флаго–км).

Таким образом, резкое увеличение численности пастбищных иксодовых клещей, произошедшее на территории лесопарка ННЦ, связано со значительным ростом численности вида *I. pavlovskyi* тогда как уровень численности *I. persulcatus* сопоставим с уровнем численности иксодид в 1981–2005 гг.

3.2. Вирусофорность пастбищных иксодовых клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*

Комплексное молекулярно-вирусологическое исследование проб клещей позволило выявить различные варианты детекции антигена E, РНК ВКЭ и патогенного вируса КЭ.

В клещах *I. pavlovskyi* достоверно чаще детектировали антиген Е, РНК ВКЭ и выявляли патогенный вирус, чем в клещах *I. persulcatus*, в которых наиболее часто детектировали только РНК ВКЭ. Вероятно, это связано с гетерогенностью фено-генотипических свойств популяции ВКЭ, в связи с чем использование только одного какого-либо метода не позволяет адекватно оценить масштаб инфицированности резервуарных хозяев вируса. Молекулярно-генетические методы позволяют обнаруживать возбудителя со сниженной вирулентностью для НЛМ – не вызывающего манифестной инфекции КЭ.

3.3. Молекулярное типирование ВКЭ в клещевых суспензиях и органах пассажных НЛМ

3.3.1. В случаях с клинической картиной заболевания

При исследовании органов пассажных животных с выраженными клиническими признаками заболевания после заражения суспензиями *I. pavlovskyi* (n = 23) показана смешанная инфекция в виде двух генотипов Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ в 20 образцах и в виде моноинфекции в трех образцах (Сиб-ВКЭ – один изолят; ДВ-ВКЭ – два изолята). Также в виде смешанной инфекции Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ вирус выявлялся в восьми из восьми биологических изолятах от *I. persulcatus*.

Таким образом, в клещевых суспензиях, вызывавших заболевание НЛМ при заражении, ВКЭ достоверно чаще ($p < 0,001$) был представлен в виде смешанной инфекции Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ. При исследовании органов пассажных животных (НЛМ), зараженных этими образцами, ВКЭ был представлен только в виде смешанной инфекции Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ.

3.3.2. В случаях с отсутствием клинической картины заболевания

Часть клещевых суспензий, положительных в ИФА, при интрацеребральном заражении НЛМ не вызвали манифестной инфекции. У *I. pavlovskyi* частота детекции РНК ВКЭ составила $2,0 \pm 0,7\%$, возбудитель был представлен в виде моно- (шесть РНК-изолятов) и смешанной (два РНК-изолята) форме, соответственно – в четырех образцах – Сиб-ВКЭ; по одному – ДВ-ВКЭ и Евр-ВКЭ, в двух – Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ и Сиб-ВКЭ + Евр-ВКЭ.

У *I. persulcatus* частота детекции РНК ВКЭ составила $4,3 \pm 0,8\%$, возбудитель был представлен в виде моно- (19 РНК-изолятов) –

и смешанной (три РНК-изолята) форме, соответственно в двух образцах – ДВ-ВКЭ, в трех – Евр-ВКЭ, в 14 – Сиб-ВКЭ, в трех – Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ.

У обоих видов иксодид РНК ВКЭ достоверно ($p < 0,001$) чаще детектировали в виде моноинфекции (преимущественно Сиб-ВКЭ), чем смешанной инфекции.

При выборочном исследовании органов НЛМ ($n = 6$), заражение которых суспензиями положительных в ИФА клещей не сопровождалось развитием клинической картины заболевания, РНК ВКЭ двух генотипов (Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ) была выявлена в четырех образцах.

Таким образом, несмотря на выявляемое молекулярными методами абсолютное преобладание в клещах возбудителя КЭ в виде монотипа, в органах пассажных животных обнаруживаются смешанные варианты возбудителя на фоне отсутствия клинических проявлений инфекционного процесса. При этом минорные последовательности, по-видимому, могут получать преимущество при репликации в организме восприимчивых животных (в нашем случае – НЛМ) и достигать концентраций, достаточных для выявления методами молекулярно-генетического анализа.

Глава 4. МЕЛКИЕ МЛЕКОПИТАЮЩИЕ – ПРОКОРМИТЕЛИ КЛЕЩЕЙ И ЕСТЕСТВЕННЫЕ ХОЗЯЕВА ВКЭ

4.1. Численность сообщества мелких млекопитающих

В среднем за период 2006 – 2014 гг. численность мелких млекопитающих составила $42,5 \pm 7,9$ экземпляра на 100 цилиндросуток (экз./100 цс), в том числе насекомоядных – $25,8 \pm 6,8$ экз./100 цс, (64% от общей численности мелких млекопитающих), грызунов значительно меньше – $16,7 \pm 1,9$ экз./100 цс (36%) ($p < 0,01$).

При этом изменения численности насекомоядных и грызунов происходят довольно синхронно. Так, за период исследований 1980 – 2014 гг. (по данным В.В. Панова) корреляция между ними высоко достоверна: $r_{33} = 0,62$, $p < 0,001$.

Изучение численности сообщества мелких млекопитающих в нашей работе было необходимо для уточнения участия видов мелких млекопитающих в прокормлении личинок и нимф пастбищных иксодовых клещей.

4.2. Пораженность мелких млекопитающих преимагинальными фазами развития иксодовых клещей

На территории антропоургического очага КЭ грызуны имеют большее значение в прокормлении личинок и нимф иксодовых клещей, чем насекомоядные. Основными прокормителями как личинок, так и нимф являются красная полевка (Ив – 85,6%; Ио – 7,3экз./ос.; Ипп – 20,4экз./ос.) и полевая мышь (Ив – 80,4%; Ио – 8,9 экз./ос.; Ипп – 15,1экз./ос.). Один вид насекомоядных – обыкновенная бурозубка (Ив – 28,8%; Ио – 0,8экз./ос.; Ипп – 11,0экз./ос.) в силу своей многочисленности, при низком Ио личинок также является основным прокормителем данной фазы развития клещей. Полученные нами данные по участию красной полевки и обыкновенной бурозубки в качестве основных прокормителей личинок клещей согласуются с ранее полученными в ИСиЭЖ СО РАН (Бахвалова и др., 2001, 2003).

Однако полевую мышь ранее не отмечали в качестве основного прокормителя преимаго иксодовых клещей. По-видимому, роль полевой мыши в качестве основного прокормителя связана со значительно возросшей численностью *I. pavlovskyi*, что, несомненно, требует детального изучения.

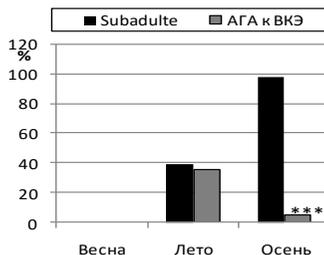
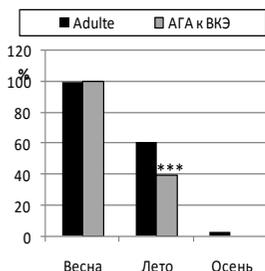
4.3. Уровень серопозитивности мелких млекопитающих

Репродукция ВКЭ в организме мелких млекопитающих сопровождается формированием гуморального противовирусного иммунитета, показателем которого служит наличие в крови зверьков разных видов противовирусных антител, в частности, АГА к ВКЭ. В связи с основной ролью в прокормлении преимаго клещей красной полевки и полевой мыши уровень противовирусного иммунитета определяли именно у этих видов.

Помимо межгодовых различий в частоте детекции серопозитивных особей у красной полевки и полевой мыши, выявлены различия и в течение эпизоотического сезона. С началом периода размножения (весна) и до холодного периода (зима) кардинально меняется возрастная структура популяции животных. Так, у красной полевки и полевой мыши в апреле - мае в отловах встречаются только зимовавшие особи. Летом их доля сокращается у красной полевки до $60,6 \pm 4,1\%$, а у полевой мыши до $48,1 \pm 4,4\%$. В сентябре - октябре

доля зимовавших особей становится незначительной, составляя у красной полевки $2,3 \pm 2,3\%$, а у полевой мыши – $4,7 \pm 2,7\%$ (рис. 4).

Красная полевка



Полевая мышь

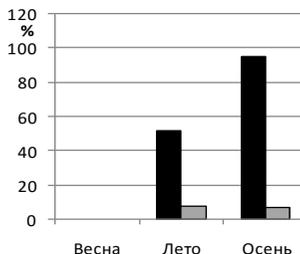
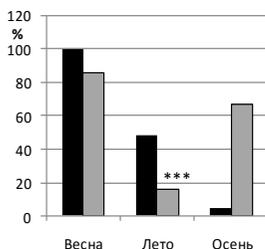


Рисунок 4. Изменение возрастной структуры популяции красной полевки/полевой мыши и доли особей содержащих в крови антигемагглютинирующие (АГА) антитела к ВКЭ. *** – ($p < 0,001$). Примечание: adulte – зимовавшие особи; subadulte – сеголетки.

Исследование изменения доли серопозитивных зверьков (АГА АТ к ВКЭ) и доли взрослых зимовавших особей выявило достоверную корреляцию у красной полевки ($r = 0,9$) и полевой мыши ($r = 0,7$).

Доля зверьков, содержащих в крови АГА АТ к ВКЭ, у красной полевки достоверно ($p < 0,001$) выше, чем у полевой мыши при схожих средних геометрических титрах. Возрастная структура существенно влияет на уровень серопозитивности вида: с уменьшением доли взрослых особей снижается количество зверьков, содержащих АГА АТ к ВКЭ.

4.4. Детекция ВКЭ у мелких млекопитающих

В исходных пробах гомогенатов органов РНК ВКЭ была выявлена у 42 красных полевок и 23 полевых мышах. Особь считалась

«положительной»), если в пробах головного мозга и/или селезенки были детектированы субвирионные компоненты (белок Е и РНК ВКЭ) и/или патогенный вирус. Данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

Отличия частот детекции ($\% \pm m^1$) субвирионных компонентов (белка Е и РНК ВКЭ) и патогенного вируса КЭ в гомогонатах органов красной полевки и полевой мыши

Вид животных, органы	Белок Е ВКЭ (ИФА)	РНК ВКЭ (ОТ–ПЦР)	Патогенный для НЛМ ВКЭ (Биопроба)
Красная полевка (n=59)			
Головной мозг	15,3±0,6 ^{*,†}	64,4±6,3 [*]	1,7±1,7
Селезенка	20,0±8,2 ^{*,†}	68,0±9,5 [*]	–
Всего на особь	22,0±5,4 ^{*,†}	71,2±5,9 [*]	1,7±1,7
Полевая мышь (n=79)			
Головной мозг	1,3±1,3 [†]	20,3±4,6	–
Селезенка	8,3±4,7 [†]	36,1±8,1	–
Всего на особь	5,1±0,1 [†]	29,1±5,1	–

Примечание: ¹ – доля положительных образцов; достоверные отличия: ^{*} – межвидовые по отдельным показателям [†] – внутривидовые между разными субвирионными компонентами.

В пробах красной полевки антиген Е, РНК и патогенный для НЛМ ВКЭ детектировали достоверно чаще, чем в пробах полевой мыши.

Вероятно, наличие большой доли зверьков, у которых выявляется только РНК ВКЭ, можно связать с явлением персистенции данного вируса в организме зверьков.

4.5. Результаты молекулярного типирования изолятов РНК ВКЭ в органах млекопитающих

В семи образцах гомогенатов органов красной полевки РНК ВКЭ была генотипирована в виде смешанной инфекции – Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ; в 14 образцах – в виде моноинфекции (Сиб-ВКЭ – 9; ДВ-ВКЭ – 5). В 12 образцах гомогенатов органов полевой мыши выявлены три генетических типа РНК ВКЭ – Сиб, ДВ и Евр. В виде смешанной инфекции – четыре изолята, а именно: Сиб-ВКЭ + ДВ-ВКЭ – 3; Сиб-ВКЭ + Евр-ВКЭ – 1. В восьми образцах была

генотипирована моноинфекция – 3 изолята РНК Сиб-ВКЭ; 5 изолятов РНК ДВ-ВКЭ.

Таким образом, в органах красной полевки детектировали РНК двух генотипов: Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ. В органах полевой мыши трех генотипов: Сиб-ВКЭ, ДВ-ВКЭ и Евр-ВКЭ. У обоих видов диких зверьков достоверно ($p < 0,01$) чаще детектировали моноинфекцию. При смешанной форме инфекции у красной полевки детектировали РНК Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ, у полевой мыши – Сиб-ВКЭ и Евр-ВКЭ.

Глава 5. СЕЛЕКТИВНОЕ ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЗМА МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ФОРМИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТАВА ВИРУСА

За исследованный период на территории ННЦ установленные виды прокармливают наибольшее количество иксодовых клещей: красная полевка (Ию личинок 7,3 экз./ос., Ипп 20,4) и полевая мышь (Ию личинок 8,9 экз./ос., Ипп 15,1). Для обоих видов характерны высокие показатели инвазированности и возможность высокого индивидуального поражения (до нескольких десятков на особь) преимагинальными фазами развития клещей.

При подкожном инфицировании вирусосодержащей суспензией с генотипическим составом РНК ВКЭ: Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ ни у одного из диких мелких млекопитающих клинических проявлений энцефалита не выявлено. При этом с 30-х суток и до конца периода наблюдения у всех зверьков в крови детектировали наличие АГА и ВН АТ. Исследование крови и органов (головной мозг и селезенка) экспериментально зараженных диких животных показало присутствие РНК Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ (табл. 2)

При подкожном заражении животных одновременное присутствие обоих генетических типов было выявлено в двух образцах крови: по одному у красной полевки (60-е сутки) и полевой мыши (8-е сутки). Во всех остальных положительных пробах обнаруживали один генотип РНК ВКЭ. В образцах крови и органах красной полевки РНК ДВ-ВКЭ детектировали до 120-х суток после заражения; РНК Сиб-ВКЭ до 60-х. В образцах крови и органов полевой мыши РНК Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ детектировали до 120-х суток. У обоих видов грызунов при длительном персистировании ВКЭ происходит периодический выброс РНК в кровь, что может способствовать заражению вирусом питающихся клещей.

Таблица 2

Выявление генотипов ВКЭ в крови и органах подопытных животных в контрольные периоды времени с момента подкожного заражения

Орган, кровь	ВКЭ	Период наблюдения, сутки							
		2	4	8	16	30	60	90	120
Красная полевка (n=36)									
Кровь	Сиб	-	+	+	-	-	+	-	-
Мозг	Сиб	-	-	+	-	-	+	-	-
Селезенка	Сиб	-	-	+	-	-	+	-	-
Кровь	ДВ	+	+	+	-	-	+	+	+
Мозг	ДВ	+	+	+	+	+	-	+	+
Селезенка	ДВ	+	-	+	-	+	+	-	-
Полевая мышь (n=30)									
Кровь	Сиб	-	-	+	Ни	+	-	+	+
Мозг	Сиб	-	-	-	Ни	-	-	-	-
Селезенка	Сиб	-	-	-	Ни	-	-	-	-
Кровь	ДВ	-	+	+	Ни	-	-	+	+
Мозг	ДВ	+	+	-	Ни	-	-	+	-
Селезенка	ДВ	+	-	-	Ни	-	-	-	-

Примечание: + РНК ВКЭ детектирована; – РНК ВКЭ не детектирована; Ни – исследование не проводили.

Результаты эксперимента показали наличие длительной персистенции ВКЭ у двух видов грызунов – естественных прокормителей неполовозрелых стадий развития иксодовых клещей. Анализ генетического состава РНК ВКЭ в период персистентной инфекции выявил возможное действие селективного отбора в пользу дальневосточного генотипа ВКЭ у красной полевки и не обнаружил такового у полевой мыши.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На территории ННЦ отмечен значительный рост численности иксодовых клещей, который связан со становлением содоминантом *I.*

pavlovskiy. Изучение пространственного распределения иксодид показало, что *I. pavlovskiy* занимает доминирующее положение в структуре сообщества иксодид в разреженном мелколиственном осиново-березовом лесу, березово-осиновом лесу и сосновом ленточном бору. Доминирующим положение *I. persulcatus* остается в сосновом бору и за пределами ННЦ в пригодных для его жизнедеятельности биотопах на всей территории Западной Сибири (Романенко, 2007; 2009а; Якименко и др., 2013).

Исследование спонтанного вирусносительства КЭ у клещей показало, что в *I. pavlovskiy* чаще всего детектировали антиген Е, РНК и патогенный вирус КЭ, тогда как в *I. persulcatus* в большинстве случаев детектировали только РНК ВКЭ. Вирус в организме клещей был представлен тремя генотипами: Сиб-ВКЭ, ДВ-ВКЭ, Евр-ВКЭ с преобладанием Сиб-ВКЭ.

В настоящее время основным прокормителем преимаго иксодовых клещей из числа мелких млекопитающих, помимо красной полевки и обыкновенной бурозубки, на исследованной территории становится полевая мышь. Частота детекции антигемагглютинирующих АТ в крови красной полевки существенно выше, чем у полевой мыши. При этом у обоих видов грызунов выявлена прямая положительная корреляция между долями взрослых перезимовавших особей и наличием в крови АГА АТ. Частота детекции субвирионных компонентов ВКЭ достоверно выше у красной полевки, чем у полевой мыши. Молекулярное типирование выявило присутствие в органах красной полевки РНК двух генотипов – Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ, а у полевой мыши – трех генотипов РНК – Сиб-ВКЭ, ДВ-ВКЭ и Евр-ВКЭ.

Проведенная экспериментальная работа по выяснению роли прокормителей преимаго иксодид в селекции Сиб-ВКЭ и ДВ-ВКЭ при подкожном введении инфекционной клещевой суспензии показало наличие длительной (как минимум трехмесячной) персистенции вируса в организме зверьков. Введенная в организм восприимчивых малочувствительных животных клещевая суспензия утратила антигенные свойства, но сохранила иммуногенные. Присутствие антигемагглютинирующих и вируснейтрализующих антител в крови зверьков, начиная с 30-х суток после заражения и до конца эксперимента, является косвенным доказательством персистенции в организме. Анализ образцов крови и органов диких грызунов показал

возможность селективного отбора ДВ-ВКЭ у красной полевки в отличие от полевой мыши.

ВЫВОДЫ

1. В период значительно возросшей численности иксодовых клещей на территории лесопарка ННЦ зарегистрирована смена доминирующего вида иксодид – *I. persulcatus* на *I. pavlovskiyi*, с которым связан регистрируемый рост численности переносчиков ВКЭ на территории ННЦ.
2. Основным прокормителем неполовозрелых иксодид помимо отмеченных ранее красной полевки и обыкновенной бурозубки на данной территории стала и полевая мышь.
3. В клещах *I. pavlovskiyi* достоверно чаще, чем в клещах *I. persulcatus* присутствует антиген Е, РНК и патогенный вирус клещевого энцефалита; у *I. persulcatus* наиболее часто отмечена только РНК вируса.
4. У красной полевки антиген Е, РНК и патогенный для лабораторных животных вирус КЭ отмечается достоверно чаще, чем у полевой мыши.
5. Анализ генетического состава РНК вируса клещевого энцефалита в период персистентной инфекции обнаружил селективный отбор генотипов вируса клещевого энцефалита в организме красной полевки и не выявил такового у полевой мыши.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в журналах из перечня ВАК, рекомендованных для публикации основных материалов диссертации:

1. Бахвалова, В.Н. Распределение генетических типов вируса клещевого энцефалита среди спонтанно инфицированных иксодовых клещей и мелких млекопитающих на территории Новосибирской области / В.Н. Бахвалова, Г.С. Чичерина, В.В. Панов, В.В. Глухов [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2015. – Т. 20. – № 4. – С. 26–34.
2. **Чичерина, Г.С.** Особенности инфекции вирусом клещевого энцефалита *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskiyi* в период роста

численности и трансформации видовой структуры сообщества иксодид / **Г.С. Чичерина**, О.В. Морозова, В.В. Панов, В.Н. Романенко [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – Т. 60. – № 5. – С. 42–46.

3. **Чичерина, Г.С.** Сравнительный анализ зараженности голодных иксодовых клещей *Ixodes pavlovskyi* и *Ixodes persulcatus* вирусом клещевого энцефалита в зоне симпатрии их ареалов / **Г.С. Чичерина**, О.В. Морозова, В.В. Панов, В.Н. Романенко [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни – 2015. – Т. 20. – № 1. – С. 20–26.
4. Бахвалова, В.Н. Биоразнообразие вируса клещевого энцефалита в иксодовых клещах и мелких млекопитающих на территории Новосибирской области / В.Н. Бахвалова, **Г.С. Чичерина**, В.В. Панов, В.В. Глупов, О.В. Морозова // Инфекционные болезни. – 2015. – Т. 13. – № 4. – С. 15–21.

Работы, опубликованные в сборниках трудов, в материалах региональных, всероссийских и международных конференций:

1. **Чичерина, Г.С.** Особенности экспериментальной инфекции диких мелких грызунов вирусом клещевого энцефалита (ВКЭ) / **Г.С. Чичерина**, В.Н. Бахвалова, В.В. Панов, Л.Э. Матвеев [и др.] // Первая Всероссийская конференция, посвященная 125-летию биологических исследований в Томском государственном университете. Томск, 2010. – Т. 275. – С. 248–251.
2. Бахвалова, В.Н. Трансформация сообщества иксодовых клещей и их зараженность вирусом клещевого энцефалита в лесопарке Академгородка / В.Н. Бахвалова, В.Н. Романенко, В.В. Панов, **Г.С. Чичерина** [и др.] // Динамика экосистем Новосибирского Академгородка / ред. ак. И.Ф. Жимулев. Новосибирск, 2013. – С. 360–365.
3. Бахвалова, В.Н. Лесные вампиры / В.Н. Бахвалова, В.Н. Романенко, В.В. Панов, **Г.С. Чичерина** [и др.] // газета «Наука в Сибири». № 34–35 (1 сентября 2011 г.). – С. 15.
4. **Чичерина, Г.С.** Антропогенная трансформация сообщества иксодовых клещей в Западносибирском природном очаге клещевого энцефалита / **Г.С. Чичерина**, В.Н. Романенко, В.В. Панов, О.В. Морозова [и др.] // Материалы международной школы-

- семинара молодых ученых. Научные чтения памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка «Антропогенная трансформация природной среды». Пермь, 2011. – С. 135–141.
5. **Чичерина, Г.С.** Гетерогенность природных популяций вируса клещевого энцефалита у иксодовых клещей и диких мелких млекопитающих / **Г.С. Чичерина**, О.В. Морозова, В.В. Панов, В.Н. Бахвалова // Материалы Первой Всероссийской конференции «Гетерогенность популяций бактерий и вирусов и ее отражение в эпидемиологии и клинике инфекционных болезней». Владивосток, 2013. – С 108–110.
 6. Потапова, О.Ф. Участие aberrантной окрасочной формы красной полевки (*Myodes rutilus*) в поддержании циркуляции вируса клещевого энцефалита в антропургическом очаге / О.Ф. Потапова, В.Н. Бахвалова, **Г.С. Чичерина**, В.В. Панов [и др.] // Международная научная конференция, посвященная 135-летию Томского Государственного университета, 125-летию кафедры зоологии позвоночных и экологии и Зоологического музея и 20-летию научно-исследовательской лаборатории биоиндикации и экологического мониторинга ТГУ. Томск, 2013. – С. 94.
 7. **Чичерина, Г.С.** Особенности вирусоносительства у массовых видов мелких млекопитающих в антропургическом очаге клещевого энцефалита / **Г.С. Чичерина**, В.Н. Бахвалова, В.В. Панов, О.В. Морозова // Международная научная конференция, посвященная 135-летию Томского Государственного университета, 125-летию кафедры зоологии позвоночных и экологии и Зоологического музея и 20-летию научно-исследовательской лаборатории биоиндикации и экологического мониторинга ТГУ. Томск, 2013. – С. 108.
 8. **Чичерина Г.С.** Динамика фено-генотипических свойств вируса клещевого энцефалита при моделировании трансмиссии от иксодовых клещей диким грызунам / **Г.С. Чичерина**, В.Н. Бахвалова, О.Ф. Потапова, В.В. Панов [и др.] // Национальные приоритеты России. М., 2014. – № 3 (13). – С. 121–126.