

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ДЛИН РЕСТРИКЦИОННЫХ ФРАГМЕНТОВ

*Карань Л.С.¹, Погодина В.В.², Бочкова Н.Г.², Маленко Г.В.²
Левина Л.С.², Фролова Т.В.², Мязин А.Е.¹, Платонов А.Е.¹*

1 — ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ

*2 — Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН
Москва*

Введение.

Клещевой энцефалит (КЭ) был и остается актуальной нейроинфекцией как для России, так и для ряда других стран. Изучение структуры популяции вируса на разных эндемичных территориях интересно и важно с точки зрения эпидемиологии и клиники данного заболевания. Выделяют три основных серотипа и соответствующие им три генотипа вируса клещевого энцефалита: дальневосточный, сибирский и европейский.

Хотя исчерпывающую информацию о генотипе вируса можно получить только путем секвенирования полного генома, в упрощенном варианте генотипирование может осуществляться как методом секвенирования адекватно подобранных отдельных участков генома, так и

методом анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов, получающихся в результате рестрикции по сайтам, уникальным для данного генотипа.

Материалы и методы.

Было проанализировано 87 штаммов вируса КЭ из коллекции Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН, а также аутопсийный материал от 6 умерших больных из Ярославской и Красноярской областей и 5 образцов, выделенных из клещей *I. persulcatus* из Свердловской области.

В ПЦР использовали праймеры, комплементарные области E гена вируса клещевого энцефалита: TBE4: TTGACYTKGACYCAGACYGTCAT и TBE5: TCTCCAAGGTTGTAYACGTCCAT. Полученный ампликон длиной 205 н.п. обрабатывали следующими эндонуклеазами рестрикции: Asu2CI, Bst4CI, HinfI, в результате чего получали набор последовательностей ДНК различной длины для каждого из генотипов.

Генотип	Asu2CI	Bst4CI	HinfI
	Длины рестриционных фрагментов, н.п.		
Дальневосточный	126-79	107-98	Нет сайта
		149-56	
Сибирский	Нет сайта	107-98	163-42
		98-79-28	
		107-74-24	
		Нет сайта	
Европейский	Нет сайта	160-45	Нет сайта

Таким образом генотипирующими рестриктазами являются для дальневосточного генотипа – Asu2CI, сибирского – HinfI, западного – Bst4CI.

Для некоторого числа штаммов (38, из них дальневосточного подтипа – 6, сибирского – 29, европейского - 3) и образцов из аутопсийного материала (3) результаты рестриционного анализа были подтверждены прямым секвенированием ампликонов.

Результаты и обсуждение.

Результат генотипирования 38 штаммов методом секвенирования совпал с результатами рестриционного анализа этих штаммов для 34 образцов. У 4 штаммов не было сайтов рестрикции для генотипирующих рестриктаз (все – сибирский генотип). Результаты генотипирования двумя вышеуказанными методами для проб из аутопсийного материала совпали. Для других 57 образцов генотипирование проводили только рестриционным методом. В результате типирования генотипы распределились следующим образом: сибирский – 40, дальневосточный – 11,

европейский – 6. В одном случае наблюдали одновременное присутствие западного и сибирского генотипов ВКЭ. В случае 6 летальных исходов во всех образцах был обнаружен сибирский генотип ВКЭ.

Результаты генотипирования штаммов в зависимости от их географического происхождения выглядят следующим образом:

Регион	Сибирский генотип	Дальневосточный генотип	Европейский генотип
Западная Сибирь	19	3	-
Восточная Сибирь	19	4	1
Уральский	7	3	-
Центральный	19	2	2
Дальний Восток	1	5	-
Прибалтийские страны	7	-	6