

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ, ЦИРКУЛИРОВАВШЕГО В 2005–2007 гг. В РОССИИ И СТРАНАХ СНГ

С. Б. Яцышина, Т. С. Астахова, С. И. Браславская, Т. Ю. Кондратьева,
Г. А. Шипулин

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (syatsyshina@pcr.ru), Москва, Россия

В случае возникновения эпизоотий гриппа с целью разработки правильной тактики противозидемических мероприятий чрезвычайно важным является детальное изучение изолятов вируса для определения субтипа, оценки их патогенности для животных и человека, эпидемической опасности и чувствительности к противовирусным препаратам. С этой целью проводился мониторинг и молекулярно-генетический анализ изолятов вирусов гриппа А, у диких перелетных и домашних птиц в ряде регионов России и стран СНГ. В общей сложности протестировано 1 740 образцов. В материале от павших домашних птиц в селах: Суздалка Доволенского района Новосибирской области (июль 2005 г.), Яндовка Ефремовского района Тульской области (октябрь 2005 г.), Черноземельное Советского района АПК (декабрь 2005 г.), Стрелковое Херсонской области (апрель 2006), Горностаевка; в г. Феодосия, в селе Заветное (апрель 2006 г.) Республики Украина, в населенных пунктах Биласувар, Гилязи, Баку Республики Азербайджан (январь–февраль 2006 г.), в Краснодарском Крае (г. Лобинск, январь 2007 г), в населенных пунктах Домодедовского и Одинцовского районов Подмосковья (февраль 2007 г.), а также в материале от павших диких лебедей в дельте реки Волга в районе Астраханской области была обнаружена РНК вируса гриппа А (H5N1). Наличие в образцах вируса гриппа А (H5N1), было зарегистрировано с помощью тест-системы «АмплиСенс Influenza virus A (H5N1)» (ФГУН ЦНИИЭ) на основе ПЦР. Для секвенирования протяженных участков сегментов вируса гриппа H5N1 были выбраны праймеры, образующие в процессе амплификации набор перекрывающихся фрагментов. Экстракцию РНК проводили непосредственно из биологического материала — внутренних органов павших птиц с использованием наборов реагентов «Рибо-сорб» (ФГУН ЦНИИЭ). Обратную транскрипцию и ПЦР проводили на приборах «Терцик» (ДНК-технология) с использованием реагентов производства ФГУН ЦНИИЭ. Фрагменты амплификации секвенировали методом с набором ABI PRISM Big Dye™ v.1.1 анализатора ABI-3100 PRISM™ (Applied Biosystems, США). Выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли по алгоритму Clustal. Полученные последовательности нуклеотидов депонированы в Gen Bank под номерами DQ212791, DQ212792, DQ279300, DQ279301, DQ320136, DQ320137, DQ340847, DQ340848 и DQ840518–DQ840533, EF447430, EF447431. Исследование показало, что вирус относится к высоко патогенным вариантам, возникшим в Китае в результате явления реассортации циркулировавших в резервуарах диких и домашних птиц вирусов А (H5N1), относящихся к генотипам Z и V. Первая вспышка, вызванная этим вариантом вируса, была зарегистрирована среди водоплавающей птицы весной 2005 г. на озере Цинхай, которое находится на пересечении путей миграции птиц из Южной Азии, Новой Зеландии, Австралии и Сибири. Нуклеотидные последовательности наиболее варибельного гена гемагглютинина в исследованных изолятах совпадали между собой на 98,4–99,9% и на 98,5–99,7% — по гену нейраминидазы. В изолятах вируса обнаружен ряд молекулярных маркеров, свидетельствующих о высокой патогенности вируса для птиц отряда куриные и млекопитающих, и не обнаружены мутации, облегчающие инфицирование людей. Показано, что циркулировавшие в данной эпизоотии на исследованной территории варианты вируса гриппа А (H5N1) чувствительны к ремантадину. В материале от диких лебедей обнаружен вариант вируса, имеющий мутацию (His 274 Tyr), обуславливающую резистентность к озельтамивиру (Тамифлю).