

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА В ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ ВИРУСА ПТИЧЬЕГО ГРИППА А/Н5N1

Хайтович А.Б.^{1,2}, Шварсалон Н.К.^{1,2}, Ильичев Ю.А.¹, Чирний В.И.¹, Кирьякова Л.С.^{1,2}, Хайтович А.Г.², Шипулин Г.А.³, Яцышина С.Б.³

¹ Крымская противочумная станция Министерства здравоохранения Украины, Симферополь, Украина; ² Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Украина; ³ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Введение

Современная панзоотия высокопатогенного птичьего гриппа во многом обусловлена молекулярно-генетической характеристикой вирусов гриппа А субтипа Н5N1, что определяет их патогенные свойства, проявление и течение эпизоотийного процесса среди различных видов птиц и млекопитающих [5]. Выявленные закономерности распространения высокопатогенного птичьего гриппа (ВППГ) позволили установить ключевые территории для мониторинга – места сезонных скоплений диких птиц, носителей вируса, где эпизоотии среди сельскохозяйственной птицы принимали массовый характер [1], а также разработать гипотезу о закономерностях возникновения современной панзоотии [2, 3] с учетом сформировавшихся представлений о молекулярно-генетических особенностях циркулирующих в Юго-Восточной Азии вирусов гриппа А/Н5N1 [5] и происхождении отдельных популяций высокопатогенных вирусов гриппа птиц на территории СНГ [1, 4].

Использование молекулярно-генетических исследований для изучения генетической структуры вирусов гриппа позволяет провести научно обоснованный эпизоотологический мониторинг, определить происхождение штаммов и направленность перемещения (распространения) эпидемического (эпизоотического) процесса.

Актуальность проводимых исследований подтверждается регистрацией эпизоотий среди сельскохозяйственной птицы в Украине и других европейских странах [2]. Изучение особенностей вирусов гриппа А/Н5N1 представляется важным для предотвращения или уменьшения последствий возможной пандемии у людей.

Цель исследования

Анализ свойств циркулирующих вирусов гриппа А/Н5N1 среди диких птиц на современном этапе панзоотии по результатам молекулярно-генетических исследований.

Материалы и методы

С декабря 2005 г. по май 2007 г. проводился молекулярно-генетический мониторинг циркуляции вируса гриппа А/Н5N1 среди диких птиц околородного эколого-фаунистического комплекса на территории Автономной Республики Крым, Херсонской и Запорожской областей.

Было отобрано 1902 пробы от более 50 видов птиц, которые были исследованы на наличие РНК вируса гриппа А и идентификации субтипов Н5, Н7 и Н5N1 в положительных пробах с помощью тест-систем «АмплиСенс Influenza virus Н5» и «АмплиСенс Influenza virus А – Н5/Н7» (Россия) в лаборатории Крымской противочумной станции методами обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени и полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией.

Секвенирование генов, построение филогенетического дерева и филогенетический анализ вирусов гриппа А/Н5N1 от проб, забранных во время эпизоотии в Крыму в 2005 –2006 гг., в сравнении со штаммами циркулировавшими в панзоотии на различных территориях проводились в Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии Роспотребнадзора (Россия, Москва).

Результаты

В результате молекулярно-генетических исследований, проводимых в рамках эпизоотологического мониторинга, была определена циркуляция вируса гриппа А как среди сельскохозяйственных птиц (субтип Н5N1) в декабре 2005 г., так и среди диких перелетных птиц в апреле-мае 2006 г. (субтип Н5N1 и Н5) и в мае 2007 г. (субтип Н5).

Филогенетический анализ по гену гемагглютинина изолятов вирусов гриппа А/Н5N1 от сельскохозяйственных и диких перелетных птиц показал их высокий уровень гомологии с вирусами, выделенными в апреле-июне 2005 г. от погибших диких перелетных птиц около озера Цинхай (Китай).

Полученные данные молекулярно-генетических исследований и проведенный анализ позволили подтвердить высказанную ранее гипотезу [2, 3] о периодичности распространения ВППГ Н5N1 в мире:

1 период – первичных проявлений (с 1959 по 1996 гг.). В мире отмечались локальные эпизоотии ВППГ среди домашней птицы, ограниченные в пространстве и времени.

2 период – регионального распространения (с 1997 по апрель 2005 гг.). Происходили массовые эпизоотии, вызванные вирусом гриппа А/Н5N1, среди домашней птицы в одной географической области (Юго-Восточная Азия).

3 период – глобального распространения гриппа А субтипа Н5N1 в Восточном полушарии (с апреля 2005 г. и по настоящее время). Этот период включает четыре фазы, определившие современные проблемы с птичьим гриппом в мире: фаза А – внедрение вируса ВППГ Н5N1 в различные по-

пуляции диких видов водоплавающей птицы, проявившееся эпизоотией в природном заповеднике около озера Цинхай (Китай) в апреле-мае 2005 г., которая явилась ключевым моментом последующих событий; фаза Б – распространение инфекции по Центрально-азиатскому миграционному потоку диких птиц, возникновение эпизоотий летом 2005 г. в Монголии, Казахстане и России, где располагаются общие для различных видов птиц места сезонного размещения, гнездования и кормления (то есть пересечение миграционных маршрутов); фаза В – межпопуляционный переход вируса на территории Западной Сибири в зоне пересечения миграционных путей в результате контакта птиц, и его циркуляция среди видов, осуществляющих перелет по разным трансконтинентальным миграционным маршрутам; фаза Г – дальнейшее распространение ВППГ H5N1 в Европу, Африку, Азию с дикими перелетными птицами.

Заключение

Таким образом, использование молекулярно-генетических исследований в эпизоотологическом мониторинге вирусов гриппа А позволяет не только изучить генетическую структуру возбудителя, но и определить происхождение инфекции, выявить направленность распространения и основные участки размещения инфекта, наиболее подходящий штамм в качестве вакцинного кандидата. Комплексное и системное применение молекулярной диагностики является основой для подтверждения разработанных гипотез. Это дает возможность проводить комплексный эпизоотологический анализ, осуществлять прогнозирование развития как эпизоотической, так и эпидемической ситуации по птичьему гриппу для всех регионов Земного шара.

Литература

1. Онищенко Г.Г., Бережнов С.П., Шестопалов А.М. и др. Молекулярно-биологический анализ изолятов вируса гриппа, вызвавших эпизоотии на юге Западной Сибири и в Автономной Республике Крым // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків. – 2006. – № 87. – С. 143-150.
2. Хайтович А.Б., Шварсалон Н.К., Болдырев А.Д. и др. Высокопатогенный птичий грипп в мире. Прогноз на будущее // Ветеринарна медицина: Між від. темат. наук. зб. – Харків. – 2006. – № 87. – С. 277-283.
3. Шварсалон Н.К., Хайтович А.Б., Кирьякова Л.С. и др. Распространение высокопатогенного птичьего гриппа в мире и Украине // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: «География». – Симферополь. – 2006. – Т. 19 (58), № 1. – С. 134-141.
4. Шипулин Г.А., Яцышина С.Б., Астахова Т.С. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ изолятов вируса гриппа птиц. Эпизоотии 2005-2006 г. на территории России и стран СНГ // Ветеринарна медицина: Міжвід. тем. наук. зб. – Харків. – 2006. – № 87. – С. 301-307.
5. Chen H., Smith G. J. D., Li K. S., et al. Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control // PNAS. – 2006. – V. 10, N. 8. – P. 2845-2850.