

удалось. С помощью данной тест-системы в ЦЭЭГ был подтвержден единственный случай вируса гриппа В (штамм В/Владивосток/2/10) ветви В/Ямагата/16/88 в сезоне 2009–2010гг.

Заключение. Таким образом, новые тест-системы производства «ДНК-технология» успешно выявляют и идентифицируют вирусы гриппа А и В в клинических образцах и могут эффективно дополнять классические вирусологические методы. Тесты-системы могут быть рекомендованы для применения в эпидемиологических службах для расшифровки вспышек ОРВИ и мониторинга эпидемиологической обстановки.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА В ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ЭПИДНАДЗОРА ПАНДЕМИЧЕСКОГО ГРИППА В УКРАИНЕ

Хайтович А.Б.^{1,2}, Шварсалон Н.К.^{1,2}, Ильичов Ю.А.¹, Шипулин Г.А.³, Яцышина С.Б.³

¹ Государственное учреждение «Украинская противочумная станция» Министерства здравоохранения Украины, Симферополь, Украина

² Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь, Украина

³ ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Ведение. Особенности современного глобального эпидемического процесса определяют необходимость применения в эпидемиологическом надзоре за инфекционными болезнями, представляющими международное значение, комплексных информационно-аналитических систем с использованием методов молекулярной диагностики, которые наиболее достоверно и эффективно способны выявить и сравнить свойства отдельных штаммов возбудителей, определить место их возникновения и вектор распространения.

Целью данной работы является сравнение молекулярно-генетических характеристик вирусов гриппа А/Н1N1 1918, 2009 гг. и вирусов высокопатогенного птичьего гриппа (ВППГ) А/Н5N1, выделенных в Украине, для выявления пандемического потенциала и детерминант, обуславливающих пандемические свойства вирусов гриппа.

Материалы и методы. В работе использованы опубликованные научные результаты, база-данных GenBank, а также результаты собственных молекулярно-генетических исследований около 6000

проб от более 50 видов птиц, полученных при эпизоотологическом мониторинге циркуляции ВППГ (А/Н5N1) в Украине.

Результаты.

Сравнение пандемических вирусов гриппа 1918, 2009 гг. и высокопатогенных птичьих вирусов гриппа А/Н5N1 производилось по основным свойствам и известным молекулярным детерминантам патогенности (вирулентности):

– по происхождению: вирус гриппа А/Н1N1 1918 г. вероятно произошел в результате адаптации птичьего вируса гриппа к человеческому организму; вирус гриппа А/Н1N1 2009 г. – в результате четырехкратной реассортации (содержит сегменты свиных, птичьих и людских вирусов гриппа); возбудитель ВППГ (А/Н5N1) является птичьим вирусом гриппа;

– по особенностям строения белка НА: вирус гриппа А/Н1N1 1918 г. – аминокислота в 190 позиции НА изолятов определяет штаммоспецифические различия вирусов и возможность связываться либо с $\alpha 2,6$ - (рецепторы человека), либо с $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ - (рецепторы и человека, и птиц) сиаловыми кислотами; вирус гриппа А/Н1N1 2009 г. – Asp в позиции 190 и 225 НА определяет возможность прикрепляться к рецепторам эпителиальных клеток человека, участок протеолиза гемагглютинина содержит единственную основную аминокислоту, что обуславливает ограниченную возможность расщепления НА только под действием специфических тканевых протеаз (низкая вирулентность); вирус ВППГ А/Н5N1 – НА содержит многоосновный участок протеолиза (PQGERRRKKR/GL), ассоциируемый с высоким индексом патогенности для птиц и млекопитающих, возможностью системной репликации;

– по особенностям строения белка PB2: вирус гриппа А/Н1N1 1918 г. содержит Lys в позиции 627 белка PB2, что характерно для штаммов человеческих вирусов гриппа; вирус гриппа А/Н1N1 2009 г. – Glu в позиции 627 (характерно для птичьих вирусов гриппа А) и Asp в позиции 701, являющихся детерминантами низкой вирулентности вируса; вирусы ВППГ А/Н5N1 Цинхайской линии – Lys в позиции 627 (возможность репликации у млекопитающих);

– по особенностям строения С-окончания белка NS1: вирус гриппа А/Н1N1 1918 г. содержит PDZ-лиганд (Lys-Ser-Glu-Val), увеличивающий вирулентность; вирус гриппа А/Н1N1 2009 г. имеет делецию 11 аминокислот С-окончания NS1, что определяет отсутствие PDZ-лиганда; вирусы ВППГ А/Н5N1 клэйда 2 субклайда 2 (Цинхайская линия), в т.ч. и выделенные в Украине – обладают PDZ-лигандом, что формируется за счет последовательности аминокислот (Glu-Ser-Lys-Val), отличной от известных последовательностей аминокислот

PDZ-лиганд, увеличивающих вирулентность, других вирусов ВППГ A/H5N1 (Glu-Ser-Glu-Val и Glu-Pro-Glu-Val);

– по строению белка PB1-F2: вирус гриппа A/H1N1 1918 г. имеет полноценную аминокислотную последовательность белка (стимулирование механизмов апоптоза, особенно моноцитов, усиление воспалительного процесса и увеличение частоты и тяжести вторичной бактериальной инфекции); вирус гриппа A/H1N1 2009 г. обладает незначительной величиной белка PB1-F2 (всего 11 аминокислот – возможно отсутствие действия), обусловленной стоп кодоном в положении 12; вирусы ВППГ A/H5N1 имеют полную длину белка;

– по проявлениям эпидемического процесса: вирусы гриппа A/H1N1 1918 г. обладают известными детерминантами высокой патогенности (вирулентности), способны эффективно передаваться среди людей, что привело к пандемии 1918 г. со значительным количеством тяжелых случаев заболевания, в т.ч. смертельных; вирусы ВППГ A/H5N1 при наличии некоторых известных детерминант высокой патогенности (вирулентности), не передаются от человека человеку и вызывают спорадическую заболеваемость среди людей с существенной летальностью на энзоотичных по ВППГ территориях; вирус гриппа A/H1N1 2009 г. обладает известными детерминантами патогенности, определяющими низкую вирулентность, или детерминанты высокой вирулентности в результате особенностей молекулярного строения отсутствуют т.е. способен вызывать заболевания, в основном, с легким течением, эффективно передаваться среди людей, что привело к глобальному эпидемическому процессу в 2009 г.

Выводы.

1. По отдельным детерминантам патогенности вирусы гриппа могут быть относительно низко- или высоковирулентными, но проявления эпидемического процесса, вызываемые определенными штаммами, обуславливаются совокупностью детерминант.

2. Пандемический процесс определяется отсутствием иммунитета человеческой популяции к вирусам с новыми антигенными свойствами, возникшими в результате их различного происхождения (вирусы гриппа A/H1N1 1918, 2009 гг. и ВППГ A/H5N1), возможностью возбудителя эффективно передаваться от человека человеку (вирусы гриппа A/H1N1 1918 и 2009 гг.), а тяжесть заболеваний обуславливается наличием детерминант патогенности, определяющих высокую вирулентность (вирусы гриппа A/H1N1 1918 г. и ВППГ A/H5N1).

3. Пандемический потенциал вирусов ВППГ A/H5N1, циркулирующих в Восточном полушарии, в т.ч. и в Украине, определяется возможностью приобретения в результате механизмов изменчивости (например, реассортации и адаптации) новых молекулярных детер-

минант патогенности, что, возможно, приведет к способности возбудителя эффективно передаваться от человека человеку.

4. Для своевременного реагирования на возникновение новых людских вирусов гриппа необходим дальнейший системный молекулярно-генетический мониторинг циркулирующих вирусов гриппа А всех эволюционных линий происхождения и изучение возможных детерминант патогенности.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ГРИППА НА ТЕРРИТОРИИ РОВЕНСКОЙ ОБЛАСТИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ УКРАИНЫ

**Хоронжевская-Муляр И.С., Шевченко Г.Н., Резников А.П.,
Стаховская Л.И., Мороз В.А., Степанюк Л.А, Симоненко В.И.**

*ГУ Ровенская областная санитарно-эпидемиологическая станция, Ровно,
Украина*

Введение. В прошлом столетии вирусы гриппа А претерпели значительные генетические изменения, результатом чего явились глобальные пандемии с высокой летальностью среди людей (Волобуева О.В., Гололобова Л.В., Лядова Т.И. и другие, 2009г.). Начало третьего тысячелетия ознаменовалось новыми мутациями вируса гриппа А и возникновением пандемии, вызванной вирусом гриппа А H1N1.

Целью работы было проведение диагностических молекулярно-генетических исследований гриппа в период пандемии.

Материалы и методы. За период с октября 2009 года по август 2010 года нами в

ПЦР -лаборатории Ровенской областной СЭС были проведены исследования методом Real-Time PCR мазков с зева и носоглотки 162 больных с подозрением на пандемический грипп, а также проведены исследования секционного материала от 16 умерших больных. Исследования проводились на амплификаторе iQ5 Bio Rad с помощью тест систем фирмы Bio Rad и праймеров фирмы Beoserch Technologies (Universal influenza A, Swine influenza A, Swine influenza H1).

Кроме того, в октябре – ноябре 2009 года нами были обследованы мазки с зева и носоглотки 25 больных с подозрением на пандемический грипп методом ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации с помощью тест-систем фирмы Ампли Сенс.

Основные результаты. Пандемия гриппа А H1N1 в Ровенской области началась в конце октября 2009 года. Практически в первые