

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Література

1. Руководство по медицине. Диагностика и терапия. В 2-х т. – Т. 1: Пер. с англ. / Под ред. Р. Беркоу, Э. Флетчера. М.: Мир, 1997. – 1045 с.
2. Бронштейн А.М., Супряга В.Г. Дирофиляриоз человека в Московском регионе // Медицинская паразитология. – 2003. – № 4. – С. 46-48.
3. Григорьева М.В., Супряга В.Г. Особенности диагностики кожного дирофиляриоза // Проблема инфекции в клинической медицине. – СПб: Российская Военно-медицинская академия. – 2002. – С. 342-343.
4. Бронштейн А.М., Супряга В.Г. Дирофиляриоз человека, вызываемый *Dirofilaria (Nochtiella) repens* – новая «возникающая» инфекция в Московском регионе // Сб. тез. конф., посвященной 80-летию кафедры тропической медицины и эпидемиологии РГМУ. – М., 2003. – С. 96-97.
5. Григорьева М.В., Дворовенко Е.В. Дирофиляриоз оболочек яичка под маской синдрома отечной и гиперемированной мошонки // Детская хирургия. – 2003. – № 2. – С. 1-5.
6. Возианова Ж.И. Инфекционные и паразитарные болезни: В 3 т. – К.: Здоров'я, 2001. – Т. 2. – С. 501-502.

KIRKFILARIKISIS IN KRNETSJK REGIKRN IS NKT ALREARY EXKTICS

N.P. Skorodumova, L.D. Aharkova

SUMMARY. 43 epidemiologic research schedules of the patients suffered from dirofilariosis were studied. At all patients dirofilaria repens to be located under the skin in the area of the body, exteremities, organs of vision, epiploon and scrotum had been operatively extracted. Late diagnostics of dirofilariosis caused by absence of the typical symptoms at early stages of disease, and length of treatment of disease demands the wider acquaintance of doctors of different specialization with this pathology.

Key words: dirofilariosis, diagnostics.

© Колектив авторів, 2007

УДК 616.921.5"пташиний":576.3:575

О.Б. Хайтович, М.К. Шварсалон, Л.С. Кір'якова, Ю.О. Ільчов, В.І. Чирній, Д.Е. Абібулаєв, О.Г. Хайтович, Г.О. Шипулін, С.Б. Яцишина*

ВЗАЄМОЗУМОВЛЕНІСТЬМОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИКРОЗПОВСЮДЖЕННЯ ВИСОКОПАТОГЕННОГОПТАШИНОГОГРИПУ

Кримська протичумна станція МОЗ України (м. Сімферополь), Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського, Центральний НДІ епідеміології Росспоживнагляду (м. Москва, Росія)

Виникнення епізоотії та циркуляція в Україні високопатогенного пташиного грипу (ВППГ) H5N1 є закономірним процесом, що визначається поширенням інфекції по трансконтинентальним міграційним маршрутам з дикими перелітними птахами. Це підтверджується даними філогенетичних досліджень геному вірусів, ізольованих у різних частинах Східної півкулі. Штами ВППГ H5N1, які були виділені на території України, гомологічні ізолятам, що були отримані під час епізоотії біля оз. Цинхай (Китай) і в Росії, всі штами належать до клайду 2 за гемаглюти-

ніном, що визначає їхні патогенні властивості й широкий ареал циркуляції.

Ключові слова: грип, геоінформаційні системи, філогенетичний аналіз.

За останні 250 років було зареєстровано близько 20 пандемій грипу [1]. У ХХ сторіччі пандемії грипу були спричинені вірусами грипу А субтипів H1N1, H2N2 і H3N2 і забрали життя понад 50 млн осіб. За прогнозами ВОЗ, під час можливої пандемії грипу рівень ураження населення по всій Земній

* Автори висловлюють подяку співробітникам Азово-Чорноморської орнітологічної станції Мелітопольського державно-педагогічного університету Черниченко Й.І., Черниченко Р.М. за надання допомоги в організації вилову диких перелітних птахів і визначення їхньої видової приналежності.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

кулі складе близько 1,5 млрд осіб, з яких 7,5 млн загине. Одним з найімовірніших кандидатів у пандемічні штами є вірус грипу А субтипу H5N1, що викликав нещодавні безпрецедентні за своєю масовістю й поширеністю епізоотії високопатогенного грипу серед домашніх і диких птахів в Азії, Європі й Африці [2].

Високопатогенний пташиний грип був уперше описаний в Італії в 1878 р. як захворювання домашніх курей з поліорганним ураженням, високою контагіозністю й 100 % летальністю. З 1959 по 1997 р. зареєстровано понад 20 епізоотій ВППГ серед домашніх птахів, свиней, коней і морських ссавців, при цьому в 90-ті роки відбулося біля половини епізоотій. Всі відомі спалахи спричинені вірусами грипу А, що містять гемаглютиніни H5 або H7 [3, 4]. В Україні масова епізоотія грипу серед водоплавних домашніх птахів реєструвалася в 1963-1964 рр. у декількох південних і східних областях [5].

Виникнення високопатогенної форми вірусу зумовлено низкою закономірностей. Донедавна вважалося, що в його природному резервуарі диких водоплавних птахів перебуває тільки низькопатогенна форма вірусу, яка, проникаючи в середовище сільськогосподарської птиці, після пасажів набуває високопатогенних властивостей. Випадки загибелі дикої птиці від ВППГ були поодинокими й фіксувалися у межах перельоту від місць епізоотій грипу серед домашніх птахів [4, 6].

Патогенні властивості вірусу грипу для організму птахів визначаються будовою збудника, генетичними характеристиками кожного окремого штаму й т.ін. Розповсюдження ВППГ H5N1 у Південно-Східній Азії й за її межами показало, що відбулися деякі зміни в закономірностях виникнення високопатогенної форми інфекції й порушення еволюційної рівноваги в паразитарній системі «вірус грипу – дикі водоплавні птиці», коли дикі птахи стали носіями високопатогенного вірусу грипу. Описані особливості, ймовірно, визначають циркуляцію й прояви ВППГ у Східній півкулі [6].

Метою роботи є аналіз розповсюдження вірусу грипу А H5N1 у світі, порівняння молекулярно-генетичних характеристик штамів вірусів, виділених у різних регіонах світу й СНД, у тому числі Україні.

Матеріали і методи

Використані офіційні дані про захворювання людей на ВППГ H5N1 ВООЗ і повідомлення про епізоотії ВППГ H5N1 Міжнародного епізоотичного бюро.

Для аналізу розповсюдження ВППГ у світі застосовувалися епідеміологічний і статистичний методи з використан-

ням геоінформаційних систем (ГІС). За допомогою програми ArcGIS (версія 8.2, ліцензійний номер E 300 3/02, ESRI, США) створені електронні картографічні шари за часом і територією виникнення епізоотій ВППГ серед дикої, домашньої птиці, захворювань у людей, просторовому поширенню різних філогенетичних груп вірусів ВППГ H5N1.

Під час епізоотії ВППГ в Автономній республіці Крим (Україна) в уражених районах у грудні 2005 р. було взято 7 екземплярів полеглої домашньої птиці (кури й качки), із внутрішніх органів (печінка, мозок, легені) яких була відібрана 71 проба.

Протягом квітня-жовтня 2006 р. проводився моніторинг циркуляції вірусу грипу серед диких птахів навколотовного еколого-фауністичного комплексу на території АР Крим, Херсонської й Запорізької областей і відбір проб від них (фекалії, трахеальні й клоакальні мазки, внутрішні органи). Було відібрано 1356 проб від 50 видів, які були досліджені в лабораторії Кримської протичумної станції методами зворотної транскрипції й полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) з гібридаційно-флуоресцентною детекцією і ПЛР з електрофоретичною детекцією. Використовували ДНК-ампліфікатор 4-х канальний Rotor-Gene RG-3000 (Corbert Reserch, Австралія) і ампліфікатор «Perkin Elmer» GeneAmp PCR System 2400 (США), тест-системи «Амп-лісенс Influenza virus H5» (Росія) для виявлення РНК вірусу грипу А й ідентифікації субтипу H5N1 у позитивних пробах і «Амп-лісенс Influenza virus A/H5/H7» (Росія) для виявлення РНК вірусу грипу А й ідентифікації субтипів H5 і H7. 274 проби від 24 видів були досліджені також експрес-методом за допомогою імунохроматографічної тест-системи для індикації антигену пташиного грипу H5 AIV Ag (Animal Genetic, Inc, Корея).

Секвенування генів, побудову філогенетичного дерева й філогенетичний аналіз вірусів грипу А/H5N1 від 39 і 15 проб, забраних, відповідно, під час епізоотії в Криму в 2005-2006 рр. і від полеглих диких птахів у Генічеському районі Херсонської області навесні 2006 р., здійснювали в ЦНДі епідеміології Росспоживнагляду (Москва, Росія) [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз проявів у світі панзоотії, спричиненої вірусом грипу А H5N1, дозволяє виділити три періоди глобального розповсюдження інфекції [6].

1-й період – первинних проявів (з 1959 по 1996 рр.). У світі відзначалися локальні епізоотії ВППГ серед домашньої птиці, обмежені в просторі й часі. Епізоотії серед сільськогосподарських птахів, спричинені вірусом грипу А/H5N1, реєструвалися в Шотландії (1959) й Великобританії (1991). Епізоотичний процес розвивався в результаті поширення низькопатогенної форми інфекції серед домашньої птиці, первинним джерелом якої були дикі водоплавні птахи. На тлі виявлення антитіл до пташиного грипу серед груп ризику (працівників пташиних ринків) випадки захворювання людей пташиним грипом не реєструвалися.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

2-й період – регіонального розповсюдження (з 1997 р. по квітень 2005 р.). Відбувалися масові епізоотії, спричинені вірусом грипу А/Н5N1, серед домашньої птиці в одній географічній області (Південно-Східна Азія). Змінилася вірулентність цього субтипу для дикої птиці та ссавців – почали реєструватися спалахи ВППГ Н5N1 серед перелітних птахів, які, ймовірно, пов'язані з порушенням еволюційної рівноваги, та захворювання на пташиний грип Н5N1 котятчих. Зафіксовано перші випадки зараження й загибелі людей від ВППГ. Філогенетичний аналіз генів виділених штамів показав наявність різних груп (клайдів) вірусів грипу А/Н5N1 за гемаглютиніном (НА), із властивими для кожного з них патогенними особливостями й географічним розподілом, що визначало прояви епізоотичного й епідемічного процесів у тій або іншій країні.

Віруси клайду 1 були ізольовані від людей і птахів у В'єтнамі, Таїланді та Камбоджі і тільки від птахів – у Лаосі й Малайзії. Віруси клайду 2 були ізольовані винятково від птахів у Китаї, Індонезії, Японії й Південній Корей. Для клайду 1 характерна висока вірулентність як для курей і качок, так і для ссавців. Клайд 2 викликав 100 % загибель

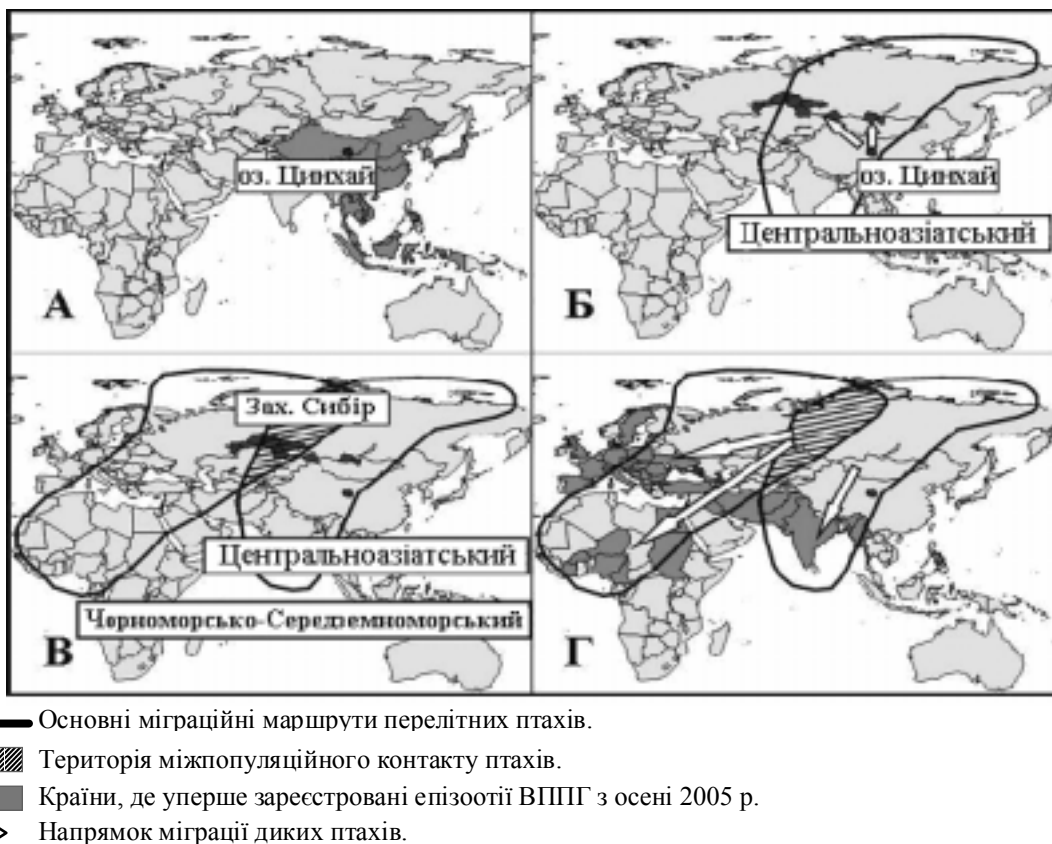
курей, однак відрізнявся нижчою патогенністю для качок і ссавців, що, ймовірно, й визначає його переважне розповсюдження. До клайду 3 належать штами вірусу грипу А субтипу Н5N1, що спричинили епізоотію в 1997 р. у Гонконгу [8].

Широка циркуляція інфекції на ринках живої птиці й серед диких птахів призвела до того, що ВППГ став ендемічним для Південно-Східної Азії.

3-й період – глобального розповсюдження грипу А субтипу Н5N1 у Східній півкулі (із квітня 2005 р. і по теперішній час). Цей період включає чотири фази, що визначили сучасні проблеми із пташиним грипом у світі (мал. 1) [9].

Фаза А – проникнення вірусу ВППГ Н5N1 у різні популяції диких видів водоплавної птиці, яке проявилось безпрецедентною масовою епізоотією в природному заповіднику біля озера Цинхай (Китай) у квітні-травні 2005 р., що виявилось ключовим моментом наступних подій. Віруси, виділені під час епізоотії, за філогенетичними характеристиками належать до клайду 2.

Фаза Б – розповсюдження інфекції по Центральноазіатському міграційному потоку диких птахів, виникнення епізоотій улітку 2005 р. у Мон-



Мал. 1. Фази третього етапу розповсюдження ВППГ Н5N1 у світі.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

голії, Казахстані й Росії, де є спільні для різних видів птахів місця сезонної локалізації, гніздування й годівлі (тобто перетинання міграційних маршрутів).

Фаза В – міжпопуляційний перехід вірусу на території Західного Сибіру в зоні перетинання міграційних шляхів внаслідок контакту птахів і його циркуляція серед видів, що здійснюють переліт по різних трансконтинентальних міграційних маршрутах.

Фаза Г – подальше розповсюдження ВППГ H5N1 в Європу, Африку, Азію з дикими перелітними птахами. У жовтні-грудні 2005 р. епізоотії ВППГ серед домашніх птахів були вперше зареєстровані в Туреччині, Румунії, Україні, а в дикій птиці – у Хорватії.

З жовтня 2005 р. нові епізоотії грипу птиці, які спричинені субтипом H5N1, були зареєстровані в 41 країні, що розташовуються на міграційних маршрутах птахів. Про перші випадки захворювання людей повідомили Туреччина, Ірак, Азербайджан, Єгипет і Джібуті. Віруси, ізольовані від птахів, а також від двох померлих людей від грипу H5N1 у Туреччині, за даними ВООЗ, були філогенетично близькі до штаму, який викликав епізоотію біля озера Цинхай, що вказує на вектор поширення інфекції [1].

Закономірності розповсюдження ВППГ показали різну значущість основних трансконтинентальних міграційних маршрутів диких перелітних птахів Східної півкулі, до яких належать Чорноморсько-Середземноморський, Центральноазіатський, Східноазіатський/Австралійський, Східноафриканський/Західноазіатський і Східноатлантичний [10].

Проведений ГС-аналіз виявив, що провідне значення в розширенні ареалу ВППГ H5N1 для країн Європи, Південно-Західної Азії, Північної й Центральної Африки належить Чорноморсько-Середземноморському міграційному маршруту, що

проходить по території 37 країн, де були зафіксовані спалахи пташиного грипу. Це склало 90,2 % територій, де з осені 2005 р. почали реєструватися епізоотії й випадки захворювання людей. Для країн Середньої Азії найбільш значимим є Центральноазіатський маршрут міграції диких птахів. При цьому більшість країн, по території яких проходить Чорноморсько-Середземноморський і Центральноазіатський міграційні маршрути диких перелітних птахів (56 і 64 % відповідно), залучені в епізоотичний і епідемічний процеси ВППГ H5N1.

Перетинання міграційних маршрутів диких перелітних птахів, можливо, й обумовило подальше розповсюдження вірусу, що призвело до широкої циркуляції ВППГ на території спочатку Східної, потім Центральної й Західної Європи, країн Близького Сходу й Африки.

Аналіз поширення й динаміки прояву ВППГ в 3-му періоді показує, що трансконтинентальна міграція диких птахів, яка відбувається із Західного Сибіру в Європу, Південно-Західну Азію й Африку через Азово-Чорноморський басейн, сприяла виникненню в 2005-2006 рр. в Україні епізоотії грипу H5N1 серед сільськогосподарських і диких птахів (мал. 2).

Моніторингові молекулярно-генетичні дослідження за допомогою ЗТ-ПЛР у реальному часі визначили наявність вірусу грипу А серед диких птахів навколоводного еколого-фауністичного комплексу Азово-Сиваського регіону на території АР Крим і Херсонської області (табл. 1).

У Херсонській області в пробах від великого баклана (*Phalacrocorax carbo*) виявлені віруси грипу А субтипу H5N1, грипу А H5 і грипу А (субтип не визначений). В АР Крим вірус грипу А субтипу H5N1



Мал. 2. Епізоотія ВППГ H5N1 в Україні у 2005-2006 рр.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Результати досліджень на ВППГ H5N1 диких навколотовних птахів Азово-Сиваського регіону в 2006 р.

Місяць	Кількість проб надійшло/досліджено	Кількість проб (наявність РНК вірусу грипу А)			
		Субтип H5N1	Субтип H5	Субтип не визначено	Всього
Квітень	36/36	6	1	2	9
Травень	467/467	1	4	6	11
Червень	15/15	0	0	0	0
Серпень	544/544	0	0	0	0
Жовтень	294/294	0	0	0	0
Всього	1356/1356	7	5	8	20

виявлений у пробах від крячка білокрилого (*Chlidonias leucopterus*) і побережника чорногрудого (*Calidris alpina*), вірус грипу А H5 – у побережника чорногрудого й сивці морської (*Pluvialis squatarola*), і, крім того, грипу А (субтип не визначений) – у мартина звичайного (*Larus ridibundus*), брижача (*Phylomachus pugnax*) і побережника болотяного (*Limicola falcinellus*).

Результати вивчення 274 проб за допомогою імунохроматографічних тестів індикації антигенів пташиного грипу H5 були негативними. Проведені паралельні дослідження за допомогою ПЛР також не виявили антигену збудника грипу в цих пробах.

Філогенетичний аналіз генів вірусів ВППГ H5N1, що спричинили епізоотії в Україні, Росії, й ізольованих від диких птахів у озера Цинхай (Китай), показує, що виявлений у матеріалі вірус грипу А/H5N1 містить послідовність сайту протеолізу гемаглютиніну, що кодує 6 основних амінокислот (PQGERRRKKR/GL) та асоційована з високим індексом патогенності для птахів ряду куроподібних й ссавців, і делецію в гені нейрамінідази (20 амінокислот в позиції 49-68), що є маркером адаптації вірусу до організму птахів і видоспецифічної ділянки зв'язування гемаглютиніну із сіаловими рецепторами птахів.

Мутації, що визначають адаптацію вірусу до характерних для людини рецепторів, а також стійкість вірусу грипу до ремантадину, амантадину й озельтамівіру (таміфлю) не виявлено.

Результати показали, що епізоотію грипу в АР Крим і Херсонській області спричинив вірус грипу А/H5N1, який має високу гомологію до вірусів грипу А/H5N1, ізольованих від домашніх птахів при епізоотії в серпні-листопаді 2005 р. у Сибірському й Уральському федеральних округах, у Тульській і Астраханській областях Російської Федерації, в республіці Азербайджан у лютому 2006 р., а також до вірусів, виділених від диких водоплавних птахів, що загинули при епізоотії у квітні-травні

2005 р. біля озера Цинхай (Китай). Гомологія ізолятів становить від 98,6 до 99,9 % за геном гемаглютиніну, що найбільш піддається мутаційному процесу, й 98,9-99,8 % – за амінокислотною послідовністю гемаглютиніну.

Найбільш гомологічними (99,5 %) виявилися два ізоляти від великих бакланів (Херсонська область), а найменш (98,8-98,9 %) – ізоляти від бакланів (Херсонська область) і курей (АР Крим), що пояснюється, ймовірно, видовою подібністю/відмінністю й часом виділення. Гомологія секвенованого ізоляту з АР Крим А/chicken/Crimea/1/2005 (H5N1) і вищевказаних ізолятів за геном гемаглютиніну склала від 98,9 до 99,2 %, і за геном нейрамінідази – від 98,9 до 99,4 %. Результати філогенетичного аналізу свідчать про існування розмаїття варіантів гемаглютиніну в популяції диких перелітних птахів.

Таким чином, проведений порівняльний епізоотологічний, епідеміологічний і молекулярно-генетичний аналіз проявів інфекції H5N1 виявив періодичність розповсюдження вірусу грипу А H5N1 у світі, що підтверджується результатами досліджень, які знайшли зміни в генній структурі вірусу грипу, і отриманими при вивченні вірусів, ізольованих у різних регіонах світу.

Висновки

1. Розповсюдження ВППГ H5N1 у світі відбувалося послідовно, що обумовлено еволюційними змінами й генетичними властивостями вірусу.

2. Кожний із трьох періодів має характерні особливості поширення й проявів пташиного грипу H5N1 у світі.

3. Виникнення епізоотії й циркуляція в Україні ВППГ є закономірним процесом, що визначається розповсюдженням інфекції по трансконтинентальним міграційним маршрутам дикими перелітними птахами, які стали носіями високопатогенної форми вірусу.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

4. Результати ГІС-аналізу розповсюдження ВППГ H5N1 і гіпотеза про періоди процесу підтверджуються даними філогенетичних досліджень геному вірусів, ізольованих у різних частинах Східної півкулі. Штами ВППГ H5N1, виділені на території України, гомологічні ізолятам, отриманим під час епізоотій біля оз. Цинхай (Китай) і в Росії, оскільки за гемаглютиніном штами належать до одного – 2-го клайду, і це визначає їхні патогенні властивості й широкий ареал циркуляції.

Література

1. World Health Organisation. Outbreak news // Weekly epidemiological records. – 2006. – V. 81, N 3. – P. 22-24.
2. Li K.S., Guan Y, Wang J et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia // Nature. – 2004. – V. 430. – P. 209-213.
3. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. Evolution and ecology of influenza A viruses // Microbiol. Rev. – 1992. – V. 56, N 1. – P. 152-179.
4. Webster R.G. Influenza: an emerging disease // Emerg. Infect. Dis. – 1998. – V. 4. – P. 436-441.
5. Ситник І.О., Андрейчин М.А. Проблема пташиного грипу // Інфекційні хвороби. – 2005. – № 4. – С. 5-13.
6. 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.
7. Шипулин Г.А., Яцышина С.Б., Астахова Т.С. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ изолятов вируса гриппа птиц. Эпизоотии 2005-2006 гг. на территории России и стран СНГ // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2006. – № 87. – С. 301-307.
8. Members of the World Health Organization Global Influenza Program and collaborating laboratories. Evolution of

H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia // Emerg. Infect. Dis. – 2005. – V. 11, N. 10. – P. 1515-1521.

9. Хайтович А.Б., Шварсалон Н.К., Болдырев А.Д., Хайтович А.Г. Высокопатогенный птичий грипп в мире. Прогноз на будущее // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2006. – № 87. – С. 277-283.

10. Potential risk of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) spreading through wild water bird migration. Food and Agriculture Organization. – 2005. – http://www.fao.org/docs/eims/upload/191072/Watch_MigratoryBirds2005.pdf

INTERCONTINENTAL MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS AND HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA SPREADING

O.B. Khaytovych, M.K. Shvarsalon, L.S. Kiryakova, Yu.O. Ilyichov, V.I. Chyrniy, D.E. Alibulayev, O.H. Khaytovych, H.O. Shypulin, S.B. Yatsyshyna

SUMMARY. Occurrence of epizooty of HPAI H5N1 and its circulation in Ukraine is a natural process, which is defined by distribution of infection through transcontinental migratory routes with wild migratory birds. It is confirmed by data of phylogenetic researches of virus genomes isolated in different parts of Eastern hemisphere. Strains of HPAI H5N1, which have been allocated in Ukraine, are homologous to isolates that have been received during epizooties near Qinghai Lake (China) and in Russia; all strains belong to clade 2 by hemagglutinin that defines their pathogenic properties and a wide area of circulation.

Key words: influenza, geoinformative systems, phylogenetic analysis.