

**К.Т. Султанкулова, Г.О. Шыныбекова*, Н.Н. Мухами, О.В. Червякова,
А.М. Мелисбек, Н.С. Кожабергенов, М.Б. Орынбаев**

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
пгт. Гвардейский, Кордайский район, Жамбылская область, Казахстан
*Автор для корреспонденции: gaukhar_1988@bk.ru

Детекция и генотипирование вируса ККГЛ в популяциях клещей на территории Жамбылской области

Аннотация. Республика Казахстан по своему географическому и природному расположению имеет благоприятные условия для развития и распространения на ее территории многих видов клещей-переносчиков различных видов возбудителей особо опасных инфекций. В ходе этого исследования были собраны и исследованы на наличие арбовирусов 319 образцов (32 пулов) клещей в Жамбылской области. Весной 2021 г. выявлена циркуляция вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) среди клещей, обитающих в Жамбылской области методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Отсутствуют сведения о генетической принадлежности новых изолятов вируса, циркулирующих на территории страны. Анализ новых данных о генетическом разнообразии вируса ККГЛ позволит оценить современное состояние популяции вируса, определить границы ареалов распространения генетических вариантов вируса ККГЛ на территории РК. Определены нуклеотидные последовательности фрагмента S сегмента двух новых изолятов вируса ККГЛ, выделенных из клещей, обитающих в Жамбылской области. Анализ нуклеотидных последовательностей S сегмента двух изолятов вируса ККГЛ показал, что они относятся к генотипу Азия-2. Новые изоляты генетически близки с вирусами ККГЛ, выделенными в Южном Казахстане, Узбекистане, Таджикистане и Индии. Полученные материалы послужат основой для разработки стратегии эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекционными болезнями на территории РК.

Ключевые слова: арбовирус, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, клещ, ОТ-ПЦР, генотип.

DOI: 10.32523/2616-7034-2022-138-1-17-28

Введение

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) - особо опасная природно-очаговая вирусная инфекция, этиологическим агентом КГЛ является вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), принадлежащий к роду *Orthonairovirus* семейства *Nairoviridae* порядка *Bunyavirales* [1, 2].

Обширный географический ареал распространения вируса ККГЛ в мире, резкие подъемы уровня заболеваемости, возникающие через различные периоды времени, постепенное расширение ареала инфекции обуславливают необходимость использования адекватных методов для идентификации и дифференциации штаммов вируса [3].

В период с 1944 по 2017 г. случаи заболевания людей КГЛ отмечались более чем в 30 странах [4]. Наиболее высокий уровень заболеваемости КГЛ за последние годы зарегистрирован в России, Турции и Иране [5, 6], в странах Балканского полуострова, Средней Азии и Ближнего Востока, Индии, Южно-Африканской Республике (ЮАР) [7], регистрировались заносные случаи КГЛ на неэнзоотичные территории [8].

Вирус ККГЛ является одним из наиболее широко географически распространенных арбовирусов, имеющих значение для здравоохранения [9]. Исследования последних лет показали

циркуляцию вируса ККГЛ на территории нашей страны. Ареал распространения вируса ККГЛ охватывает обширную территорию РК, южная граница ареала распространения вируса ККГЛ находится в Жамбылской, Кызылординской, Южно-Казахстанской областях [10]. Стойкие очаги вируса ККГЛ встречается в пустынных и полупустынных ландшафтах Южного Казахстана. Основным переносчиком этой инфекции являются иксодовые клещи [11].

Семейство Иксодовых клещей объединяет 6 родов: *Ixodes*, *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, каждый из которых имеет от 1 до 20 видов [12].

Молекулярно-генетический анализ вируса ККГЛ является важным инструментом для определения происхождения и генетического родства изолятов, определения генетического разнообразия вируса, распределения генетических вариантов вируса ККГЛ.

В настоящее время, на основании частичных и полных нуклеотидных последовательностей S сегмента генома вируса ККГЛ, выделяют 7 генетических линий вируса, имеющих корреляцию с географическим местом выделения: Африка-1 (I), Африка-2 (II), Африка-3 (III), Азия-1 (IVa), Азия-2 (IVb), Европа-1 (V), Европа-2 (VI) [13].

Из литературных данных известно, что на территории Казахстана циркулируют не только азиатские варианты, но и варианты с генотипом, характерным для Южной Африки [14].

В настоящем исследовании представлены результаты мониторингового исследования и генетической характеристики вируса ККГЛ, циркулирующих на территории Жамбылской области в 2021 г.

Материалы и методы

В работе использованы - 32 пула из 319 иксодовых клещей, собранных в Жамбылской области. Основная масса клещей снята с крупного рогатого скота [15]. Собранные клещи хранились и транспортировались в жидком азоте в сосуде Дьюара. Клещи объединялись по виду и по местам сбора в пулы. Измельчение клещей проводили в пластиковых пробирках в гомогенизаторе IKA ULTRA-TURRAX с добавлением 1000 мкл фосфатного буфера. Полученную суспензию хранили до начала исследования при температуре -70°C.

Для идентификации клещей до рода и вида пользовались описанием клещей, их рисунками и таблицами-определителями клещей [16].

Характеристики полевых образцов - иксодовых клещей, собранных в Жамбылской области представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристики полевых образцов иксодовых клещей, собранных в Жамбылской области

Пул	Вид насекомого	Место сбора	Координаты
1	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°19'48"; 75°04'12"
2	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°19'48"; 75°04'12"
3	<i>Ixodes ricinus</i>	Кордайский район	43°19'48"; 75°04'12"
4	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°19'48"; 75°04'12"
5	<i>Ixodes ricinus</i>	Кордайский район	43°02'13"; 74°42'41"
6	<i>Ixodes ricinus</i>	Кордайский район	43°02'13"; 74°42'41"
7	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°02'13"; 74°42'41"
8	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°26'31"; 74°36'51"
9	<i>Ixodes persulcatus</i>	Кордайский район	43°26'31"; 74°36'51"
10	<i>Ixodes ricinus</i>	Кордайский район	43°26'31"; 74°36'51"
11	<i>Ixodes persulcatus</i>	Меркенский район	42°52'48"; 73°10'48"
12	<i>Ixodes ricinus</i>	Меркенский район	42°52'48"; 73°10'48"

13	<i>Ixodes ricinus</i>	Меркенский район	42°52'48"; 73°10'48"
14	<i>Ixodes persulcatus</i>	Меркенский район	42°50'55"; 73°19'16"
15	<i>Ixodes persulcatus</i>	Меркенский район	42°50'55"; 73°19'16"
16	<i>Ixodes ricinus</i>	Меркенский район	42°50'55"; 73°19'16"
17	<i>Ixodes ricinus</i>	Меркенский район	42°50'55"; 73°19'16"
18	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
19	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
20	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
21	<i>Ixodes ricinus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
22	<i>Ixodes ricinus</i>	Т. Рыскуловский район	42°56'50"; 72°45'52"
23	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°56'50"; 72°45'52"
24	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°56'50"; 72°45'52"
25	<i>Ixodes ricinus</i>	Т. Рыскуловский район	42°59'28"; 72°06'04"
26	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°59'28"; 72°06'04"
27	<i>Ixodes ricinus</i>	Т. Рыскуловский район	42°59'28"; 72°06'04"
28	<i>Ixodes ricinus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
29	<i>Ixodes persulcatus</i>	Т. Рыскуловский район	42°54'37"; 72°42'21"
30	<i>Ixodes ricinus</i>	Байзакский район	43°25'48"; 71°39'36"
31	<i>Ixodes persulcatus</i>	Байзакский район	43°00'; 71°30'
32	<i>Ixodes persulcatus</i>	Байзакский район	43°00'; 71°30'

Все работы проведены в лаборатории «Особо опасные инфекционные болезни» (уровень биологической безопасности - УББ 3), НИИПББ.

Суммарную РНК из пулов клещей выделяли с использованием коммерческого набора PureLink Viral RNA/DNA Mini Kit, (Invitrogen, США), согласно инструкции производителя.

Аmplification проводили с использованием набора SuperScript™ One-Step RT-PCR System with Platinum™ Taq DNA Polymerase (Invitrogen, США), в соответствии с рекомендациями производителя на амплификаторе GeneAmp PCR, (Applied Biosystems США) со специфичными праймерами на вирус ККГЛ cchf-sf1 TCTCAAAGAAACACGTGCCGC и cchf-sr1 GGTTCSTTCTCСТААТСАТGTC. Параметры постановки ОТ-ПЦР амплификации при выявлении вируса ККГЛ: 2x реакционная смесь - 12,5 мкл, РНК - 2 мкл, прямой праймер cchf-sf1 (20 pM) - 1 мкл, обратный праймер cchf-sr1 (20 pM) - 1 мкл, SS III PL Taq - 0,5 мкл, H₂O до 25 мкл. Температурно-временные параметры постановки реакции ПЦР: 1 цикл - 48 °C - 30 мин, 94 °C - 3 мин; 40 циклов - 94 °C - 30 сек, 58 °C - 30 сек, 68 °C - 30 сек; 68 °C - 90 сек; 4 °C - ∞.

Нуклеотидная последовательность фрагментов S сегмента вируса ККГЛ расшифрована с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя, с использованием генетического анализатора 3130xl (Applied Biosystems, США).

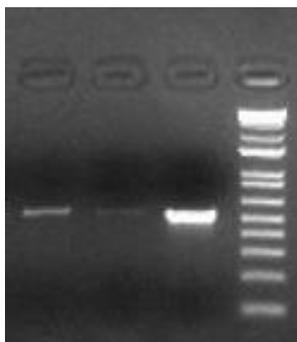
Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей S сегментов вируса ККГЛ проводили с помощью программы Mega 7.0 с использованием статистического метода максимального правдоподобия и параметрической модели Кимуры.

Результаты

Все клещи, собранные с домашних животных в 2021 г. были исследованы в ОТ-ПЦР на выявление РНК вируса ККГЛ.

Из 32 пулов иксодовых клещей, собранных в Жамбылской области в двух пулах (18 и 19 пулы), суспензии клещей *Ixodes persulcatus* (12,5%) были обнаружены положительные результаты

на наличие РНК вируса ККГЛ в ОТ-ПЦР (рисунок 1).



1 - ПЦР-продукт 18 пула (590 п.о.) S сегмента и 2 - ПЦР-продукт 19 пула S сегмента (590 п.о.) вируса ККГЛ из клещей, собранных в Жамбылской области ; М - ДНК Маркер; ПК - положительный контроль на вирус ККГЛ

Рисунок 1. Фрагменты S сегмента вируса ККГЛ из клещей *Ixodes persulcatus*, собранных в Жамбылской области

В Казахстане имеются благоприятные условия для распространения ряда трансмиссивных вирусных заболеваний в силу большой плотности населения с высокими показателями внутренней и внешней миграции, динамично развивающимся сельским хозяйством и внешним товарооборотом. Природно-климатические и биоценологические параметры, включая единство фауны носителей и переносчиков различных инфекций, объединяют его со Среднеазиатским регионом. ККГЛ регистрируется также в Кызылординской и Жамбылской областях [17]. Вирус ККГЛ выявлен на территории района Т. Рыскулова (18, 19 пулы) Жамбылской области из клещей *Ixodes persulcatus* (рисунок 2).

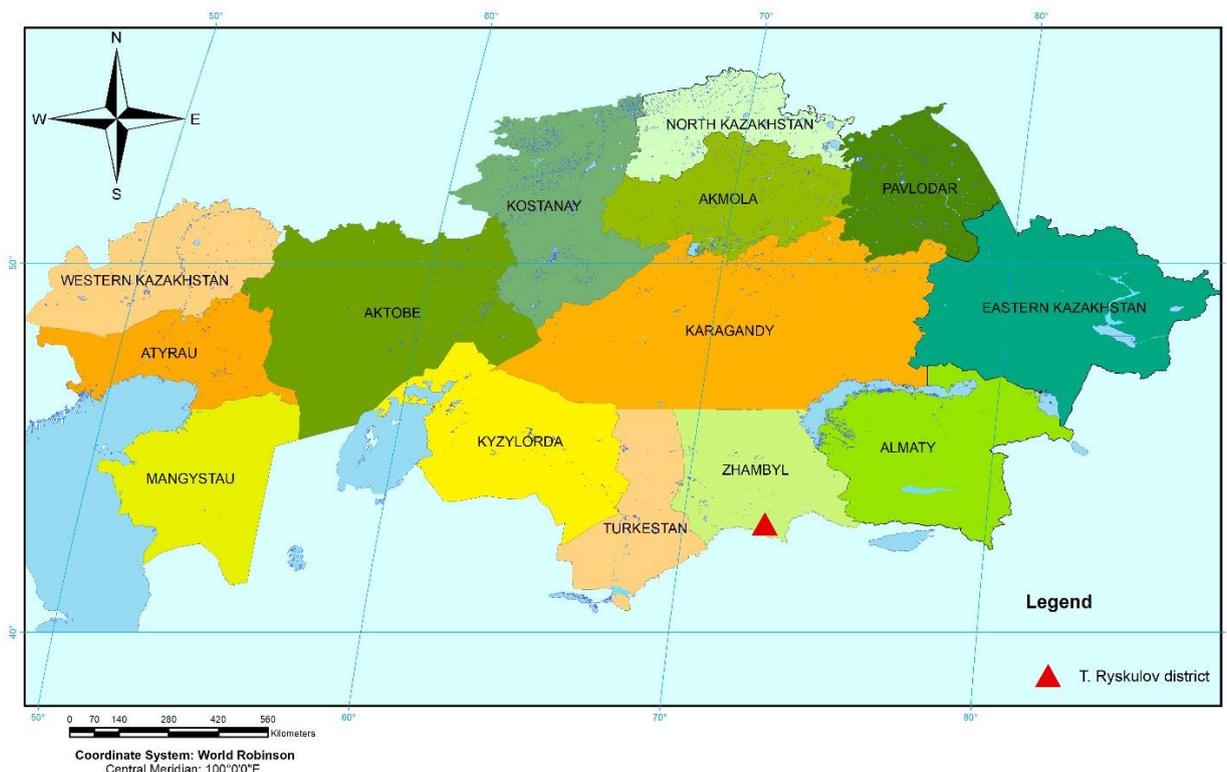


Рисунок 2. Географическое распространение ККГЛ на территории Жамбылской области. Иллюстрация выполнена с использованием программы ArcGIS 10.4.1

Определена нуклеотидная последовательность фрагментов S сегментов генома РНК двух новых изолятов вируса ККГЛ, выделенных от клещей, обитающих в районе Т. Рыскулова Жамбылской области. Филогенетический анализ по фрагменту S сегмента (рисунок 3) показал, что новые казахстанские изоляты вируса ККГЛ входят в одну группу с казахстанским изолятом КХ096700 *Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolate tick pool #80* из GenBank. Этот изолят выделен в 2015 г. из клещей, обитающих в Мактааральском районе Южно-Казахстанской области.

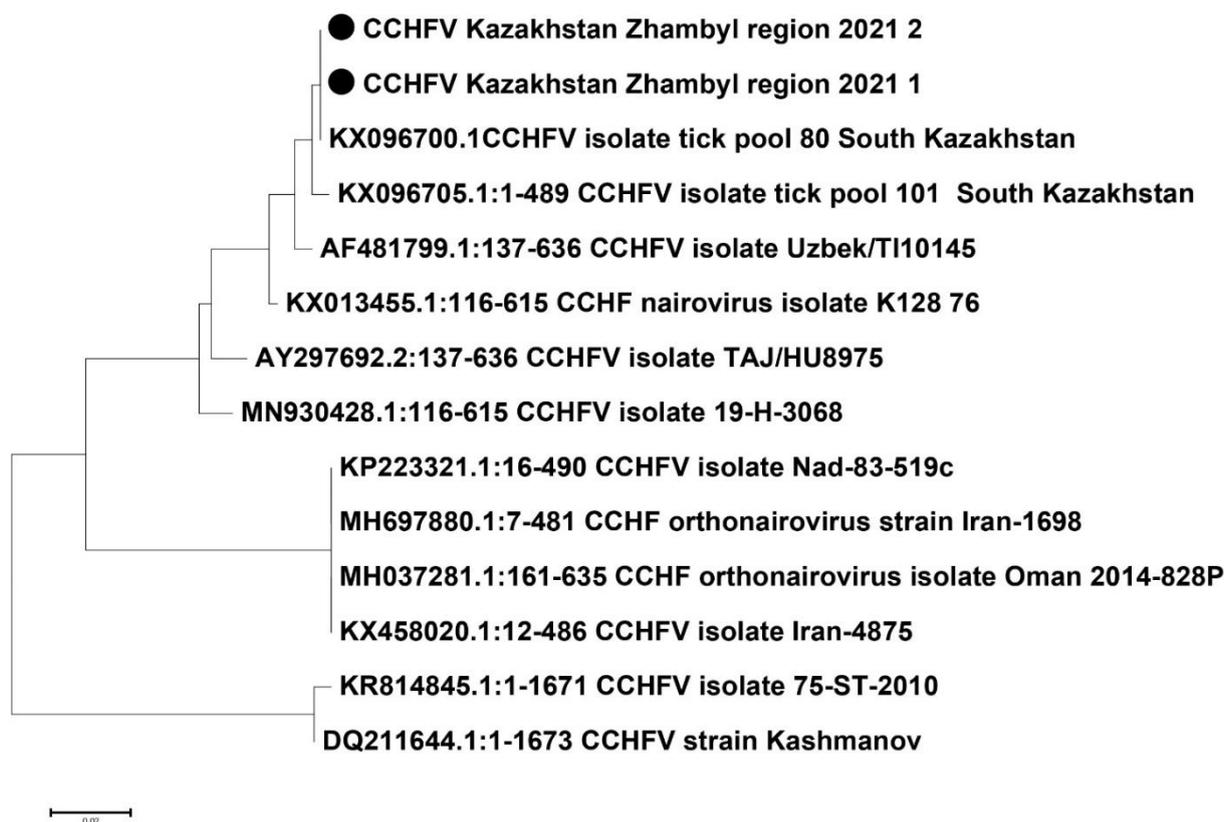


Рисунок 3. Филогенетическое дерево S-сегмента вируса ККГЛ

Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA версии 7.0 (www.megasoftware.net) с использованием метода maximum likelihood. Два новых изолята вируса ККГЛ, выделенные в Казахстане весной 2021 г., относящиеся к генотипу Азия-2 выделены кругом.

Оба новых изолята вируса ККГЛ 2021 г. выделения имели 100%-ую нуклеотидную идентичность между собой и с одним из казахстанских изолятов вируса ККГЛ (КХ096700) 2015 года выделения. S-сегменты новых изолятов вируса ККГЛ показали идентичность нуклеотидов на 98,98% со вторым казахстанским изолятом (КХ096705) *Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolate tick pool 101* из GenBank.

В результате анализа образцов полевого материала, доставленных из Жамбылской области весной 2021 г., получены данные о генотипе Азия-2 вируса ККГЛ.

Обсуждение

Крымская-Конго геморрагическая лихорадка - это тяжелая геморрагическая лихорадка у людей с летальным исходом до 50%. Вирус передается людям в основном через укусы инфицированных клещей.

Вирус ККГЛ вызывает спорадические случаи или вспышки тяжелых заболеваний,

распространен на огромной географической территории - от западного Китая до Ближнего Востока и юго-восточной Европы и большей части Африки. Вирус ККГЛ поддерживается в циклах вертикальной и горизонтальной передачи с участием иксодовых клещей и различных диких и домашних позвоночных, которые не проявляют признаков болезни. Распространение вируса ККГЛ в мире и постепенное расширение ареала инфекции обуславливает необходимость использования адекватных методов для детекции и генотипирования штаммов вируса. Есть предположение, что ККГЛ является мигрирующим патогеном, т.к. регистрировались заносные случаи КГЛ на неэнзоотичные территории.

Молекулярные и биохимические свойства вируса ККГЛ показали, что вирус кодирует более крупные белки по сравнению с другими видами *Bunyavirus*. Недавние исследования также показали, что вирусы ККГЛ относительно различаются по последовательности генома, и вирусы сгруппированы в семь разных генотипов. Филогенетические анализы, основанные на последовательностях S- и L-сегментов вируса ККГЛ показывают, что семь генотипов коррелируют с их географическими положениями [18].

В течение апреля-мая 2021 года были собраны и исследованы на наличие ККГЛ 319 образцов (32 пулов) клещей в Жамбылской области и 2 пула (6,25%) были положительными в ОТ-ПЦР. Положительные случаи были выявлены в районе Т. Рыскулова Жамбылской области. Непосредственно секвенированы фрагменты S-сегмента для определения преобладающих генотипов ККГЛ в Казахстане.

Исследование направлено на изучение генетического разнообразия вируса ККГЛ, обнаруженного в Жамбылской области, на основе анализа частичных последовательностей S-сегмента. Анализ нуклеотидных последовательностей S сегментов двух изолятов вируса ККГЛ показал, что они относятся к генотипу Азия-2. Так как казахстанские изоляты вируса ККГЛ из этого исследования сгруппированы со штаммом, выделенным в 2015 году казахстанским изолятом вируса ККГЛ (КХ096700) в рамках геногруппы Азия-2. Выделенные изоляты генетически близки с вирусами ККГЛ, выделенными в Южном Казахстане (КХ096705), Узбекистане (АФ481799), Таджикистане (АУ297692) и Индии (МН930428).

Генотип Азия-1 характерен для стран Юго-Западной, Центральной и Южной Азии (Ирана, Афганистана, Пакистана, Ирака, Омана, ОАЭ, встречается в Таджикистане), единичные изоляты этого генотипа выделены на Мадагаскаре и в Китае [18].

Генотип Азия-2 выявлен в странах Восточной, Центральной, Юго-Западной и Южной Азии (является доминирующим генетическим вариантом в Китае, Индии, Таджикистане, Узбекистане, Казахстане, Туркменистане, встречается в Пакистане и Иране) [19].

Географическая близость территории Казахстана к регионам, где зарегистрированы заболевания ККГЛ среди клещей, обуславливает необходимость проведения мониторинга этой инфекции.

Заключение

В популяции клещей *Ixodes persulcatus* весной 2021 г. на территории Жамбылской области выявлены изоляты вируса ККГЛ генотипа Азия-2, характерные для южного региона РК, что было установлено в предыдущих исследованиях [14].

Полученные результаты будут использованы в разработке и совершенствовании отечественных диагностических тест-систем и профилактических средств против ККГЛ. Необходимо дальнейшее изучение географического распространения различных генотипов вируса ККГЛ в других регионах Казахстана.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта грантового финансирования «Мониторинг арбовирусов на территории Республики Казахстан», 2020-2022гг., №АР08856914.

Список литературы

1. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2012. - № 3. - С. 42-53.
2. ICTV. Virus Taxonomy 2016. [Электронный ресурс] - URL: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report (дата обращения: 10.07.2021).
3. Волинкина А.С. Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих в Российской Федерации 03.02.02 - вирусология, автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. - Ставрополь, 2018.
4. Бутенко А.М., Трусова И.Н. Заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой в странах Европы, Африки и Азии (1943-2012 гг.) // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2013. - № 5. - С. 46-48.
5. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity // Antiviral research. - 2013. - Vol. 100. - N1. - P. 159-189.
6. Keshtkar-Jahromi Maryam, Sajadi Mohammad M., Hossein Ansari, Masoud Mardani, Kourosh Holakouie-Naieni. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran // Antiviral Research. - 2013. - Vol. 100. - N1. - P. 20-28.
7. Mamuchishvili N., Salyer S.J., Stauffer K. et al. Notes from the field: Increase in reported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases-country of Georgia, 2014 // MMWR. Morbidity and mortality weekly report. - 2015. - Vol. 64. - N8. - P. 228-229.
8. Crimean-Congo hemorrhagic fever and travel: Gideon blog. [Электронный ресурс] - URL: <https://www.gideononline.com/2014/07/05/crimean-congo-hemorrhagic-fever-and-travel> (дата обращения 10.07.2021).
9. Al-Abri Seif S., Al-Abaidani Idris, Fazlalipour Mehdi, Mostafavi Ehsan, Leblebicioglu Hakan, Pshenichnaya Natalia, Memish Ziad A., Hewson Roger, Petersen Eskild, Mala Peter, Minh Tran, Nguyen Nhu, Mamunur Rahman Malik, Formenty Pierre, Jeffries Rosanna. Current status of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region: issues, challenges, and future directions // International Journal of Infectious Diseases. - 2017. - Vol. 58. - P. 82-89.
10. Nurmakhanov Talgat, Sansyzbaev Yerlan, Atshabar Bakhyt, Deryabin Pavel, Kazakov Stanislav, Zholshorinov Aitmagambet, Matzhanova Almagul, Sadvakassova Alya, Saylaubekuly Ratbek, Kyraubaev Kakimzhan, Hay John, Atkinson Barry, Hewson Roger. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan // International Journal of Infectious Diseases. - 2015. Vol. 38. - P. 19-23.
11. Myrzhieva A.B., Shabdarbaeva G.S., Turganbaeva G.E., Balgimbaeva A.I., Ibazhanova A.S. Ixodid Ticks: Epizootic Status and Methods for Tick Population Size Reduction // OnLine Journal of Biological Sciences. - 2020, - №20 (4), - P. 166-175.
12. Турганбаева Г.Е., Шабдарбаева Г.С., Ахметсадыков Н.Н., Кожакоев К.К., Ахметжанова М.Н. Степень зараженности пироплазмидами иксодовых клещей в Южно-Казахстанской и Алматинской областях Республики Казахстан // Известия Национальной Академии наук Республики Казахстан. Серия аграрных наук. - 2016. - №6. - С. 48-56.

13. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity // *Antiviral research.* - 2013. - Vol. 100. - N.1. - P. 159-189.
14. Нурмаханов Т.И., Сансызбаев Е.Б., Есходжаев О.У., Вилкова А.Н., Сайлаубекулы Р., Кулемин М.В., Атовулаева Л.М., Камалова Д.К., Шевцов А.Б. Генетические варианты вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующие на территории Южно-Казахстанской области // *Медицина (Алматы).* - 2018. - №9 (195). - С. 54-60
15. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих-переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций // *Методические указания МУ 3.1.1027-01.* - Москва, 2020. - С. 22-23.
16. Коренберг Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменение приоритетов // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* - 2013. - № 5. - С. 7-17.
17. Турлиев З.С., Усатаев Г.М. Эпидемиологическая ситуация в Республике Казахстан по Конго-Крымской геморрагической лихорадке // *Vestnik KazNMU.* - 2019. - №2. P. 20-23.
18. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Волынкина А.С. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации на современном этапе // *Проблемы особо опасных инфекций.* - 2018. - № 4 - С. 75-80.
19. Волынкина А.С. Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих в Российской Федерации. 03.02.02 - вирусология, диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. - Ставрополь, 2018.

**К.Т. Султанкулова, Г.О. Шыныбекова, Н.Н. Мухами, О.В. Червякова, А.М. Мелисбек,
Н.С. Кожабергенов, М.Б. Орынбаев**

*ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК,
Гвардейский қтп, Қазақстан*

Жамбыл облысындағы кене популяцияларында ҚКГҚ вирусын анықтау және генотиптеу

Аңдатпа. Қазақстан Республикасы географиялық және табиғи орналасуы бойынша аса қауіпті індеттер қоздырғыштарының әртүрлі түрлерін тасымалдаушы кенелердің көптеген түрлерінің дамуы мен таралуы үшін қолайлы жағдайларға ие. Зерттеу барысында Жамбыл облысында 319 кенелерден сынама (32 пұл) алынып, арбовирустардың бар-жоғы тексерілді. 2021 жылы Жамбыл облысында тіршілік ететін кенелер арасында Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусының айналымы кері транскрипциясы бар полимеразды тізбекті реакция әдісімен анықталды. Қазақстанда ҚКГҚ вирусының популяциясы кеңінен зерттелмеген, елде айналымда жүрген жаңа вирус изоляттарының генетикалық тиістілігі туралы ақпарат жоқ. ҚКГҚ вирусының генетикалық әртүрлілігі туралы жаңа деректерді талдау вирус популяциясының қазіргі жағдайын бағалауға, ҚКГҚ вирусының генетикалық варианттарының Қазақстан Республикасының аумағында таралу аймақтарының шекараларын анықтауға мүмкіндік береді. Жұмысты орындау кезінде молекулалық-генетикалық әдістер (нуклеин қышқылдарын бөліп алу, КТ-ПТР, Сангер бойынша ДНҚ тізбектілігі), Mega 7.0 бағдарламасын қолданып филогенетикалық талдау әдісі, ArcGIS 10.4.1. бағдарламасын қолданып геоақпараттық талдау әдісі қолданылды. Жамбыл облысында тіршілік ететін кенелерден бөлініп алынған екі ҚКГҚ вирус изоляттарының S сегментінің нуклеотидтік тізбегі анықталды. Екі ҚКГҚ вирус изоляттарының S сегментінің

нуклеотидтік тізбегін талдау, олардың Азия 2 генотипіне жататындығын көрсетті. Жаңа изоляттар генетикалық жағынан Оңтүстік Қазақстан, Өзбекстан, Тәжікстан және Үндістанда бөлініп алынған ККГҚ вирустарына ұқсас. Алынған материалдар Қазақстан Республикасының аумағында табиғи ошақтық инфекциялық ауруларды эпидемиологиялық қадағалау стратегиясын жасауға негіз болады.

Түйін сөздер: арбовирус, Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы, кене, КТ-ПТР, генотип.

K.T. Sultankulova, G.O. Shynybekova, N.N. Mukhami, O.V. Chervyakova, A.M. Melisbek, N.S. Kozhabergenov, M.B. Orynbayev

RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

Detection and genotyping of the CCHF virus in tick populations in the Zhambyl region

Abstract. The Republic of Kazakhstan has favorable conditions for the development and distribution of many species of ticks, which are carriers of various types of pathogens of especially dangerous infections. In the course of this study, 319 samples (32 pools) of ticks in the Zhambyl region were collected and examined for the presence of arboviruses. In 2021, the circulation of the CCHF virus was detected among ticks living in the Zhambyl region by the method of polymerase chain reaction with reverse transcription. The population of the CCHF virus in the Republic of Kazakhstan has not been studied more widely, there is no information on the genetic affiliation of the new virus isolates circulating in the country. Analysis of new data on the genetic diversity of the CCHF virus will make it possible to assess the current state of the virus population, to determine the boundaries of the distribution areas of genetic variants of the CCHF virus in the territory of the Republic of Kazakhstan. The work was performed using molecular genetic methods (isolation of nucleic acids, RT-PCR, DNA sequencing according to Sanger), the method of phylogenetic analysis using the Mega 7.0 program, the method of geoinformation analysis using the ArcGIS 10.4.1. program. The nucleotide sequences of the S segment fragment of two CCHF virus isolates isolated from ticks inhabiting the Zhambyl region were determined. Analysis of the nucleotide sequences of the S segment of two CCHF virus isolates showed that they belong to the Asia 2 genotype. New isolates are genetically close to the CCHF viruses isolated in South Kazakhstan, Uzbekistan, Tajikistan, and India. The obtained materials will serve as the basis for the development of a strategy for epidemiological surveillance of natural focal infectious diseases in the territory of the Republic of Kazakhstan.

Keywords: arbovirus, Crimean-Congo hemorrhagic fever, tick, RT-PCR, genotype.

References

1. Kulichenko A.N., Maleckaya O.V., Vasilenko N.F. Krymskaya gemorragicheskaya lihoradka v Evrazii v XXI veke: epidemiologicheskie aspekty, Epidemiologiya i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy [Crimean hemorrhagic fever in Eurasia in the XXI century: epidemiological aspects, Epidemiology and infectious diseases. Topical issues], 3, 42-53 (2012). [in Russian]
2. ICTV. Virus Taxonomy 2016. [Electronic resource] - Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report (Accessed: 10.07.2021)
3. Volynkina A.S. Molekulyarno-geneticheskij analiz variantov virusa Krymskoj-Kongo gemorragicheskoy lihoradki, cirkuliruyushchih v Rossijskoj Federacii [Molecular genetic analysis of variants of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus circulating in the Russian Federation] 03.02.02 - virusologiya, avtoreferat dissertacii na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk

[Virology, dissertation abstract for the degree of candidate of biological sciences]. Stavropol', 2018. [in Russian]

4. Butenko A.M., Trusova I.N. Zaboлеваemost' Krymskoj gemorragicheskoj lihoradkoj v stranah Evropy, Afriki i Azii (1943-2012), Epidemiologiya i infekcionnye bolezni [The incidence of Crimean hemorrhagic fever in Europe, Africa and Asia (1943-2012), Epidemiology and infectious diseases], 5, 46-48 (2013). [in Russian]

5. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antiviral research, 100(1), 159-189 (2013).

6. Keshtkar-Jahromi Maryam, Sajadi Mohammad M., Hossein Ansari, Masoud Mardani, Kourosh Holakouie-Naieni. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran, Antiviral Research, 100(1), 20-28 (2013).

7. Mamuchishvili N., Salyer S.J., Stauffer K. et al. Notes from the field: Increase in reported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases-country of Georgia, 2014, MMWR. Morbidity and mortality weekly report, 64(8), 228-229 (2015).

8. Crimean-Congo hemorrhagic fever and travel: Gideon blog. [Electronic resource] - Available at: <https://www.gideononline.com/2014/07/05/crimean-congo-hemorrhagic-fever-and-travel> (Accessed: 10.07.2021).

9. Al-Abri Seif S., Al-Abaidani Idris, Fazlalipour Mehdi, Mostafavi Ehsan, Leblebicioglu Hakan, Pshenichnaya Natalia, Memish Ziad A., Hewson Roger, Petersen Eskild, Mala Peter, Minh Tran, Nguyen Nhu, Mamunur Rahman Malik, Formenty Pierre, Jeffries Rosanna. Current status of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region: issues, challenges, and future directions, International Journal of Infectious Diseases, 58, 82-89 (2017).

10. Nurmakhanov Talgat, Sansyzbaev Yerlan, Atshabar Bakhyt, Deryabin Pavel, Kazakov Stanislav, Zholshorinov Aitmagambet, Matzhanova Almagul, Sadvakassova Alya, Saylaubekuly Ratbek, Kyraubaev Kakimzhan, Hay John, Atkinson Barry, Hewson Roger. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan, International Journal of Infectious Diseases, 38, 19-23 (2015).

11. Myrzhieva A.B., Shabdarbaeva G.S., Turganbaeva G.E., Balgimbaeva A.I., Ibazhanova A.S. Ixodid Ticks: Epizootic Status and Methods for Tick Population Size Reduction, OnLine Journal of Biological Sciences, 20(4), 166-175 (2020).

12. Turganbaeva G.E., SHabdarbaeva G.S., Ahmetsadykov N.N., Kozhakov K.K., Ahmetzhanova M.N. Stepen' zarazhennosti pirop plazmidami iksodovyh kleshchej v YUzhno-Kazahstanskoj i Almatinskoj oblastyah Respubliki Kazahstan, Izvestiya Nacional'noj Akademii nauk Respubliki Kazahstan. Seriya agrarnyh nauk [The degree of infection with pyroplasmids of ixodid ticks in the South Kazakhstan and Almaty regions of the Republic of Kazakhstan, Bulletin of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Agrarian Science Series], 6, 48-56 (2016). [in Russian]

13. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antiviral research, 2013. Vol. 100. № 1. P. 159-189.

14. Nurmahanov T.I., Sansyzbaev E.B., Eskhodzhaev O.U., Vilкова A.N., Sajlaubekuly R., Kulemin M.V., Atovulaeva L.M., Kamalova D.K., SHEvcov A.B. Geneticheskie varianty virusa Krym-Kongo gemorragicheskoj lihoradki, cirkuliruyushchie na territorii YUzhno-Kazahstanskoj oblasti, Medicina (Almaty) [Genetic variants of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus circulating in the South Kazakhstan region, Medicine (Almaty)], 9(195), 54-60 (2018). [in Russian]

15. Sbor, uchet i podgotovka k laboratornomu issledovaniyu krovososushchih chlenistonogih-perenoschikov vzbuditelej prirodno-ochagovyh infekcij [Collection, registration and preparation for

laboratory research of blood-sucking arthropod vectors of pathogens of natural focal infections]. Metodicheskie ukazaniya MU [Methodical instructions MU] 3.1.1027-01, Moskva, 2020, P. 22-23. [in Russian]

16. Korenberg E.I. Infekcii, peredayushchiesya iksodovymi kleshchami v lesnoj zone, i strategiya ih profilaktiki: izmenenie prioritetov, Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika [Infections transmitted by ixodid ticks in the forest zone and a strategy for their prevention: changing priorities, Epidemiology and vaccination], 5, 7-17, (2013). [in Russian]

17. Turliev Z.S., Usataev G.M. Epidemiologicheskaya situatsiya v Respublike Kazahstan po Kongo-Krymskoj gemorragicheskoj lihoradke, Vestnik KazNMU [Epidemiological situation in the Republic of Kazakhstan on the Crimean-Congo hemorrhagic fever, Vestnik KazNMU], 2, 20-23 (2019). [in Russian]

18. Popova A.YU., Kulichenko A.N., Ezhlova E.B., Pakschina N.D., Vasilenko N.F., Maleckaya O.V., Prislegina D.A., Volynkina A.S. Osobennosti epidemiologicheskoy obstanovki po Krymskoj gemorragicheskoj lihoradke v Rossijskoj Federacii na sovremennom etape, Problemy osobo opasnykh infekcij [Features of the epidemiological situation in the Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation at the present stage, Problems of especially dangerous infections], 4, 75-80 (2018). [in Russian]

19. Volynkina A.S. Molekulyarno-geneticheskij analiz variantov virusa Krymskoj-Kongo gemorragicheskoj lihoradki, cirkuliruyushchih v Rossijskoj Federacii [Molecular genetic analysis of variants of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus circulating in the Russian Federation] 03.02.02 - Virusologiya. dissertatsiya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk [Virology. dissertation for the degree of candidate of biological sciences]. Stavropol', 2018. [in Russian]

Сведения об авторах:

Султанкулова К.Т. – кандидат биологических наук, профессор, заведующая лабораторией «Молекулярная биология и геновая инженерия», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Шыныбекова Г.О. – магистр естественных наук, младший научный сотрудник лаборатории «Молекулярная биология и геновая инженерия», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Мухами Н.Н. – магистр естественных наук, старший лаборант лаборатории «Молекулярная биология и геновая инженерия», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Червякова О.В. – кандидат биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории «Молекулярная биология и геновая инженерия», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Мелисбек А.М. – старший лаборант лаборатории «Коллективное пользование», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Кожаберженов Н.С. – магистр естественных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Молекулярная биология и геновая инженерия», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Орынбаев М.Б. – кандидат ветеринарных наук, профессор, заведующий отдела «Мониторинг инфекционных болезней», РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан.

Sultankulova K.T. – Candidate of Biological Sciences, Professor, Head of the laboratory "Molecular biology and genetic engineering", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Shynybekova G.O. – Master of Natural Science, Junior Researcher of the laboratory "Molecular biology and genetic engineering", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Mukhami N.N. – Master of Natural Science, Senior Assistant of the laboratory "Molecular biology and genetic engineering", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Cherovakova O.V. – Candidate of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher of the laboratory "Molecular biology and genetic engineering", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Melisbek A.M. – Senior Assistant of the laboratory "Collective use", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Kozhabergenov N.S. – Master of Natural Science, Senior Researcher, laboratory "Molecular biology and genetic engineering", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Orynbayev M.B. – Candidate of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of "Monitoring of Infectious Diseases", RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan.