

Т.И. Нурмаханов*¹, Т.К. Ерубает¹, Е.Б. Сансызбаев¹, Н.А. Туребеков¹,
К.С. Абдиева¹, Д.С. Усенбекова¹, О.У. Есходжаев¹, Б.К. Аймаханов¹,
Ж.С. Далибаев¹, М.В. Кулемин², М.А. Калмакова³, А.И. Копкова⁴

¹Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева, Алматы, Казахстан;

²Филиал «Шымкентская противочумная станция», Казахстан;

³Филиал «Кызылординская противочумная станция», Казахстан;

⁴Филиал «Жамбылская противочумная станция», Тараз, Казахстан

*Автор для корреспонденции: nti72@mail.ru

Результаты исследования клещей на обнаружение вирусов Карши, Тамды, Иссык-Кульской лихорадки, лихорадки долины Сырдарьи

В Казахстане природные очаги Крымской-Конго геморрагической лихорадки расположены на территории Туркестанской, Кызылординской и Жамбылской областей. Это заболевание ежегодно диагностируется среди людей, проводятся профилактические мероприятия, однако есть группа вирусов, такие как Карши, Тамды, вирус Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи, о которых мало что известно. В связи с этим была поставлена цель — выявить распространённость вирусов Карши, Тамды, Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи на эндемичных по Крымской-Конго геморрагической лихорадке территориях, определить основных носителей и переносчиков инфекции. Клещи отлавливались на территориях, являющихся природными очагами вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Видовой состав отловленных клещей был представлен 9 видами: *Hyalomma scupense*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma turanicum*, *Hyalomma anatolicum*, *Haemaphysalis sucata*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor niveus*, *Rhipicephalus pumilio*, *Rhipicephalus schulzei*. Предварительно были проведены работы по подбору и конструированию олигонуклеотидных праймеров для идентификации вирусов методом молекулярно-генетического анализа. В результате проведенных исследований были обнаружены положительные пробы к вирусам Тамды и лихорадки долины Сырдарьи в клещах *H. asiaticum*, *H. scupense* из Туркестанской области. Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки был обнаружен в клещах *H. asiaticum* и *H. Scupense* из Жамбылской и Туркестанской областей.

Ключевые слова: клещи, вирусы, Карши, Тамды, Иссык-Кульская лихорадка, лихорадка долины Сырдарьи, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, ПЦР, ИФА.

Введение

Новые и возвращающиеся (emerging and re-emerging) вирусные инфекции человека представляют собой одну из глобальных проблем здравоохранения [1–3]. Опасность таких инфекций обусловлена внезапным появлением, быстрым распространением и отсутствием средств специфической защиты и профилактики. Основным источником новых вирусов человека являются зоонозные вирусы, которые под влиянием совокупности факторов приобретают патогенные для человека свойства и эпидемический потенциал [4, 5]. Значительная доля среди возбудителей этих инфекций принадлежит арбовирусам, преимущественно РНК-содержащим, которые передаются человеку посредством кровососущих членистоногих переносчиков. Одним из значимых природно-очаговых вирусных инфекций в Казахстане является Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ) и геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС). Проводимые ежегодно профилактические мероприятия среди населения дают определенные положительные результаты, одним из которых можно отметить ранее обращение населения в медицинские учреждения при укусе клещей [6–8]. Однако существует группа вирусов, переносимых клещами, такие как Карши, Тамды, вирус Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи, вызывающие лихорадочные состояния у людей. О них мало что известно, однако есть данные о том, что эти вирусы обнаруживали среди различных переносчиков инфекции в начале восьмидесятых-девяностых годов прошлого столетия серологическими методами диагностики [9–11].

Вместе с тем, на сегодняшний день данные о вирусах Карши, Тамды, Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи остаются крайне ограниченными. В связи с этим была поставлена задача — разработать специфичные для каждого вируса олигонуклеотидные праймеры с целью их обнаружения молекулярно-генетическим методом в различных видах клещей и определить их возможную этиологическую роль в возникновении лихорадок неясной этиологии у людей.

Материалы и методы

Клещи отлавливались как в открытых станциях методом «на флаг», так и снимались с сельскохозяйственных животных. Предварительно клещи объединяли в пулы в среднем по 10–12 экземпляров, измельчение проводили в гомогенизаторе «Mini-Bead Beater» с добавлением 700 мкл питательной среды Игла МЕМ. Выделение РНК из суспензии клещей совершали коммерческим набором «QIAGEN» (Германия) согласно инструкции производителя. Подбор и проверку специфических праймеров осуществляли с использованием программ Primer Select (DNAStar), BioEdit и веб-ресурса Primer Blast (NCBI). При подборе праймеров учитывали основные параметры: близкая температура отжига прямого и обратного праймеров, длина праймеров от 18–25 п.н., низкая вероятность образования вторичных структур. Амплификацию образцов РНК проводили на аппарате «Roche Light Cycler 2.0» с флуоресцентной детекцией результатов. Иммуноферментный анализ (ИФА) выполняли коммерческим набором «Вектор Крым КГЛ-антиген» (Россия).

Для нанесения точек отлова клещей использовали географическую информационную систему. Полученная информация была оцифрована посредством создания электронных баз данных в программе *Excel*, а затем адаптирована для работы в программе *ArcGIS*. Тематические слои включают местоположение точек обследования территории, места сбора клещей. Данные о видовой принадлежности клещей с указанием места сбора (координаты) были занесены в электронную базу данных для создания карты.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе нашего исследования был проведен анализ литературных данных и нуклеотидных последовательностей рода *Cardiovirus* для конструирования олигонуклеотидных праймеров. Кардиовирусы входят в семейство *Picornaviridae* и вызывают тяжелые заболевания у грызунов и человека. В настоящее время отсутствует полногеномная последовательность вируса лихорадки долины Сырдарьи. В связи с этим целесообразно было провести подбор универсальных праймеров для выявления всех представителей рода *Cardiovirus*. В Международной базе данных нуклеотидных последовательностей (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) было найдено 64 полногеномных последовательностей от 14 представителей кардиовирусов. Выравнивание и филогенетический анализ последовательностей кластеризовал их в три клады. На основании полученных результатов были выбраны две стратегии подбора праймеров: первая — подбор трех пар праймеров и трех зондов, каждый набор на отдельную филогенетическую кладу; вторая — подбор универсального зонда и нескольких пар праймеров на вариабельные участки нуклеотидных последовательностей клад (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика олигонуклеотидных праймеров для выявления вируса лихорадки долины Сырдарьи

Наименование праймеров	Последовательность 5'-3'	Длина	Tm, °C	CG, %
Первая стратегия подбора праймеров				
CarSet1-TaqMan_F	FAM-cagaggaacgtcagcattttccggcc-BHQ1	26	64,2	57,7
CarSet1-F	ggtactgcgatagtgccacc	20	57,2	60,0
CarSet1-R	gttgacttagatccaaccacgt	24	56,4	45,8
CarSet2-TaqMan_F	FAM-ctgcggcctaaagccccgtg-BHQ1	20	64,2	70,0
CarSet2-F	gtagcgacctcacagtagca	20	55,6	55,0
CarSet2-R	accttcaggacattctggct	21	55,1	47,6
CarSet3-TaqMan_R	FAM-accttctgggcatccttcagccc-BHQ1	23	62,4	60,9
CarSet3-F	atgtcgtgaaggaagcagttcc	22	57,0	47,8
CarSet3-R	gcctagacgtttttaacctcgac	24	56,4	48,0
Вторая стратегия подбора праймеров				
Cardio-uni-F1	caagaagacagctgtagcgacc	22	57,7	54,5
Cardio-uni-F2	caacaacgtctgtagcgacc	21	56,4	52,4
Cardio-uni-F3	atcgaacagctgtagcgacc	21	57	52,4
Cardio-uni-R1	aaggggtacctctggacattc	22	57,1	54,5
Cardio-uni-R2	gggggtacctctggacattc	20	58,6	65
Cardio-uni-R3	cgggggtaccttcaggacattc	21	56,6	57,1
CarUni-TaqMan_F	FAM-ctgcggcctaaagccccgtg-BHQ1	20	64,2	70,0

Вирусы Тамды и Иссык-Кульской лихорадки относятся к роду *Orthonairovirus*. Геном *Orthonairovirus* состоит из трех сегментов отрицательной одноцепочечной РНК. Сегмент М кодирует многопластинчатый полигликопротеин, который обрабатывается пептидазами-хозяев с образованием зрелых гликопротеинов оболочки (Gn и Gc), муциноподобный белок и другие потенциальные продукты [12].

Выравнивание нуклеотидных последовательностей всех представителей рода *Orthonairovirus* продемонстрировало высокую генетическую вариабельность на протяжении всей последовательности, что исключает подбор универсальных праймеров с дифференцирующими зондами. Наличие высококонсервативных доменов позволяет рассматривать L-сегмент в качестве генетической мишени для подбора праймеров. В связи с высокой генетической вариабельностью были подобраны праймеры и флуоресцентные зонды к определенному вирусу (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

**Характеристика олигонуклеотидных праймеров для выявления вирусов
Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки Тамды**

Наименование	Последовательность 5'-3'	Длина	Tm, °C	CG, %
Issyk-kul-F1	gcacggctgttgtaactcc	21	56,9	52,4
Issyk-kul-R1	ccgagagtactcaatgcaagc	21	55,6	52,4
Issyk-kul-TM-1	FAM-catcgaccctatgctacctgatggca-BHQ1	26	61,7	53,8
Issyk-kul-F2	agtcttctaacaactcacagcca	24	55,7	41,7
Issyk-kul-R2	catggaactcaacctctctgc	21	55,7	52,4
Issyk-kul-TM-2	FAM-atgatgaggttgactgctcagtgct-BHQ1	27	61,5	48,1
Tamdy-F1	ctaaactcacagccgtcaacaa	23	55,7	43,5
Tamdy-R1	cttgcgacataaacactcgatgt	22	55,2	45,5
Tamdy-TM-1	FAM-ctgcccacaagagctcggcataa-BHQ1	24	61,4	54,2
Tamdy-F2	gctacattcttaattctgggcac	23	54	43,5
Tamdy-R2	cacgggcatgtccaagat	19	54,6	52,6
Tamdy-TM-2	FAM-ttggcgccatcgagattgctc-BHQ1	24	63,7	58,3

Вирус Карши относится к роду *Flavivirus*, семейство *Flaviviridae* и входит в группу переносимых клещами флавивирусов млекопитающих [13]. Данную группу составляют вирусы клещевого энцефалита, весеннего и летнего энцефалита России, Омской геморрагической лихорадки, вирус Лангата, вирус геморрагической лихорадки Альхурма, вирус Кьясанурской лесной болезни, вирус Powassan, вирус Royal Farm, вирус Карши. Вышеназванные вирусы ответственны как минимум за 10 000 клинических случаев клещевого энцефалита в год [14]. Флавивирусы представляют собой оболочечные вирусы с одноцепочечным положительным РНК-геномом, размер которого составляет приблизительно 11 тысяч п.н. [15]. Группа флавивирусов обладает высокой генетической гетерогенностью, считается, что флавивирусы с более 84 % идентичностью нуклеотидных последовательностей должны быть классифицированы в пределах одного вида, а идентичность между видами различных кластеров составляет 63–65 % [16].

В базе данных NCBI было опубликовано 3 последовательности геномов вируса Карши (DQ462443, AY863002 и DQ235147), при выравнивании нуклеотидных последовательностей которых была установлена высокая генетическая вариабельность. Праймеры были подобраны к консервативным участкам генома вируса, нуклеотидная последовательность праймеров приведена в таблице 3.

Т а б л и ц а 3

Характеристика олигонуклеотидных праймеров для выявления вируса Карши

Наименование	Последовательность 5'-3'	Длина	Tm, °C	CG, %
karshi-F1	cagagcctyggatgaagtcca	22	56,8	52,3
karshi-R1	ctgggatctggtgtacatggt	22	55,8	50,0
karshi-TaqMan1	FAM-ctgcacttgccagatgagtacacca-BHQ1	26	62,4	53,8
karshi-F2	ggaatgacctattccatgtgtga	23	54,1	43,5
karshi-R2	gctctcactgtattctcgagg	22	55,5	50,0
karshi-TaqMan2	FAM-cacagtggtgatggaggtgacctacac-BHQ1	27	62,4	55,6

Путем анализа литературных данных, анализа нуклеотидных последовательностей и их выравнивания были разработаны олигонуклеотидные праймеры для постановки ПЦР в режиме реального времени к вирусам Карши, Тамды, Иссyk-Кульской лихорадки, лихорадки долины Сырдарьи. Всего было получено 24 олигонуклеотидных праймеров и 9 флуоресцентных зондов, из них: Karshi (вирус Карши) — 4 праймера, 2 зонда; Tamdy (вирус Тамды) — 4 праймера, 2 зонда; Issyk-kul (вирус Иссyk-Кульской лихорадки) — 4 праймера, 2 зонда; CarSet, Cardio-uni (вирус лихорадки долины Сырдарьи) — 12 праймеров, 3 зонда.

Для проведения исследования клещи отлавливались на территориях Жамбылской, Кызылординской, Туркестанской областей, являющихся эндемичными по Крымской-Конго геморрагической лихорадке. Клещи были собраны с сельскохозяйственных животных: крупного рогатого скота (КРС), мелкого рогатого скота (МРС), лошадей, в местах их обитания, в частных дворах и фермах. В природе на открытых стациях клещей собирали на «флаги». Отловленных клещей затем помещали в индивидуальные пробирки, с обозначением мест сбора, вида животного, даты сбора и количества экземпляров. Места отлова клещей и места обнаружения положительных находок были оцифрованы и размещены на карте (см. рис.).

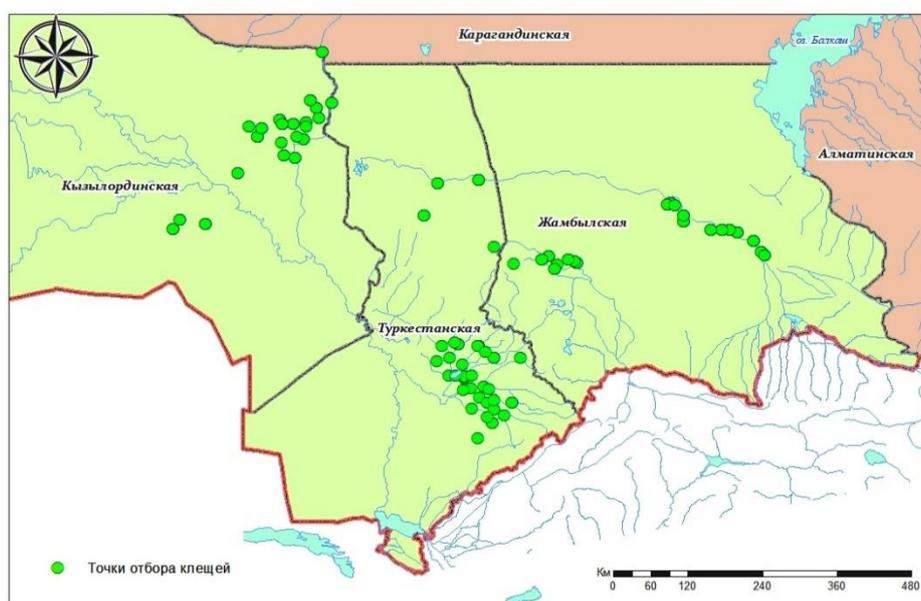


Рисунок. Точки отлова клещей на территориях Жамбылской, Кызылординской и Туркестанской областей

Всего было отловлено 2804 клещей, из них из Туркестанской области — 444, Кызылординской — 818 и Жамбылской области — 1542 экземпляра. Результаты проведенного анализа показали, что видовой состав отловленных клещей представлен 9 различными видами: *Hyalomma scupense*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma turanicum*, *Hyalomma anatolicum*, *Haemaphysalis sucata*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor niveus*, *Rhipicephalus pumilio*, *Rhipicephalus schulzei*, видовая принадлежность и численность отловленных иксодовых клещей по регионам представлены в таблице 4.

Т а б л и ц а 4

**Видовой состав и количество клещей,
отловленных на территориях трех областей для проведения исследования**

Область	<i>Hyal. scupense</i>	<i>Hyal. asiaticum</i>	<i>Hyal. turanicum</i>	<i>Hyal. anatolicum</i>	<i>Haem. sucata</i>	<i>Haem. punctata</i>	<i>D. niveus</i>	<i>Rhip. pumilio</i>	<i>Rhip. schulzei</i>	Итого
	Количество клещей									
Туркестанская	186	138	21	0	54	0	25	20	0	444
Кызылординская	0	766	0	25	0	15	11	0	1	818
Жамбылская	0	305	0	0	0	0	1237	0	0	1542
Итого по видам	186	1209	21	25	54	15	1273	20	1	2804

Всего было подготовлено 257 пулов суспензии клещей, из них из Туркестанской области — 54, Кызылординской — 93 и Жамбылской области — 110 пулов. Подготовленные пулы клещей были исследованы двумя методами: на наличие антигенов вируса ККГЛ, исследование было проведено методом ИФА; на наличие РНК вирусов Карши, Тамды, Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи, методом ПЦР с использованием разработанных праймеров. Результаты проведенных анализов приведены в таблице 5.

Т а б л и ц а 5

Результаты исследования клещей методами ИФА и ПЦР

Область	Вирус ККГЛ (ИФА)	Вирус Карши (ПЦР)	Вирус Тамды (ПЦР)	Вирус Иссык-Куль- ской лихорадки (ПЦР)	Вирус лихорадки долины Сырдарьи (ПЦР)
	Количество положительных проб/Общее количество проб				
Туркестанская	1/54	0/54	2/54	0/54	1/54
Кызылординская	0/93	0/93	0/93	0/93	0/93
Жамбылская	1/110	0/110	0/110	0/110	0/110

Проведенный анализ клещей выявил 2 положительные к вирусу ККГЛ пробы методом ИФА (*H. asiaticum* и *H. scupense*), 2 положительные пробы к вирусу Тамды (*H. asiaticum*) и 1 положительную пробу к вирусу лихорадки долины Сырдарьи (*H. scupense*). Положительные пробы к вирусам Тамды и лихорадки долины Сырдарьи были дополнительно протестированы в ПЦР на наличие вирусов ККГЛ и клещевого энцефалита для исключения перекрестной реакции с другими вирусами.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований были получены сведения о естественной зараженности клещей *H. asiaticum* и *H. Scupense* вирусами Тамды и лихорадки долины Сырдарьи и роли этих видов клещей в сохранении и передаче вирусов. Обнаруженные методом ИФА положительные на ККГЛ пробы были выявлены в клещах *H. asiaticum* и *H. scupense*. Полученные результаты показывают, что клещи *H. asiaticum* и *H. scupense* остаются на сегодняшний день одними из основных переносчиков вирусных инфекций на эндемичных территориях. Выявление вирусов Тамды и лихорадки долины Сырдарьи в клещах указывает на возможность их этиологической роли в возникновении лихорадочных заболеваний с неясной этиологией среди населения и подтверждает необходимость мониторинга за указанными инфекциями в регионе.

Разработанные праймеры к вирусам Карши, Тамды, Иссык-Кульской лихорадки и лихорадки долины Сырдарьи могут быть использованы в мониторинге очагов и диагностики заболеваний, проходящих с лихорадкой неясной этиологии.

Работа была проведена в рамках научной программы «Разработка научных основ единой для Республики Казахстан системы мониторинга, диагностики и микробного коллекционирования возбудителей особо опасных, «возвращающихся», вновь возникающих и завозных инфекций». Шифр программы О.0819.

Список литературы

- 1 Benjiang M.A. Sequencing and comparative analysis of the complete glycoprotein gene of three Crimean — Congo hemorrhagic fever virus Chinese isolates / M.A. Benjiang, H. Changshou, A. Papa // Chinese J. Exp. Clin. Viro. — 2001. — Vol. 15. — P. 105–111.
- 2 Львов Д.К. Новые и возвращающиеся инфекции — дремлющий вулкан / Д.К. Львов // Проблемы особо опасных инфекций. — 2008. — № 2. — С. 5, 6.
- 3 Шестакова И.В. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации в 2000–2015 гг.: успех или провал? / И.В. Шестакова // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. — 2017. — № 3. — С. 20.
- 4 Taylor L.H. Risk factors for human disease emergence / L.H. Taylor, S.M. Latham, M.E. Woolhouse // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. — 2001. — Vol. 356 (1411). — P. 983–989.
- 5 Jones K.E. Global trends in emerging infectious diseases / K.E. Jones, N.G. Patel, M.A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J.L. Gittleman, P. Daszak // Nature. — 2008. — Vol. 451, No. 7181. — P. 990–993.

6 Гражданов А.К. Природная очаговость геморрагической лихорадки с почечным синдромом на западе Казахстана / А.К. Гражданов, Ф.Г. Бидашко, М.В. Пак // Медицина. — 2002. — № 4. — С. 19–23.

7 Ильясова И.С. Уровень и динамика заболеваемости Конго-Крымской геморрагической лихорадкой по Кызылординской области в 2012 году / И.С. Ильясова, А.М. Матжанова, Л.Ж. Кульсеитова, Э.А. Кариева // Окружающая среда и здоровье населения. — 2013. — № 2Д. — С. 100.

8 Кыраубаев К.К. О некоторых итогах эпидемиологического надзора за Конго-Крымской геморрагической лихорадкой в Южно-Казахстанской области / К.К. Кыраубаев, Ж.Б. Медетов // Окружающая среда и здоровье населения. — 2013. — № 2Д. — С. 52.

9 Танкибаев М.А. О циркуляции некоторых арбовирусов на территории Центрального Казахстана / М.А. Танкибаев, А.А. Ким, М.С. Срымбетов, С.К. Каримов, Т.В. Кирущенко // Организация работы в диагностических центрах: тез. докл. науч. конф. — Караганда, 1993. — С. 183, 184.

10 Альховский С.В. Таксономия вируса Иссък-Куль (Issyk-Kulvirus, iSKV; bunyaviridae, Nairovirus), возбудителя Иссък-Кульской лихорадки, изолированного от летучих мышей (Vespertilionidae) и клещей Argas (Carios) vespertilionis (Latreille, 1796) / С.В. Альховский, Д.К. Львов, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, Е.И. Самохвалов, А.К. Гительман, А.Г. Ботиков // Вопросы вирусологии. — 2013. — № 5. — С. 11, 12.

11 Львов Д.К. Генетическая характеристика вируса лихорадки долины Сырдарьи (sDVFV — Syr-Daryavallefevervirus) (Picornaviridae, Cardiovirus), изолированного от человека и клещей Hyalommaas. Asiaticum (Hyalomminae), Dermacentor daghestanicus (Rhipicephalinae) (Ixodidae) и Ornithodoros sconiceps (Argasidae) в Казахстане и Туркмении / Д.К. Львов, С.В. Альховский, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, А.К. Гительман, В.А. Аристова, А.Г. Ботиков // Вопросы вирусологии. — 2014. — № 4. — С. 17–19.

12 Kuhn J.H. Genomic Characterization of the Genus Nairovirus (Family Bunyaviridae) / J.H. Kuhn, M.R. Wiley, S.E. Rodriguez, Y. Bao, K. Prieto, A.P. Travassos da Rosa // Viruses. — 2016. — No. 8(6). — P. 240–247.

13 Calisher C.H. Antigenic Classification and Taxonomy of Flaviviruses (Family Flaviviridae) Emphasizing a Universal System for the Taxonomy of Viruses Causing Tick-Borne Encephalitis / C.H. Calisher // Acta Virol. — 1988. — No. 32 (5). — P. 78–85.

14 Turell M.J. Experimental Transmission of Karshi (Mammalian Tick-Borne Flavivirus Group) Virus by Ornithodoros Ticks >2,900 Days after Initial Virus Exposure Supports the Role of Soft Ticks as a Long-Term Maintenance Mechanism for Certain Flaviviruses / M.J. Turell // Trop. Dis. — 2015. — No. 9 (8). — P. 12–19.

15 Ng W.C. The 5' and 3' Untranslated Regions of the Flaviviral Genome / W.C. Ng, R. Soto-Acosta, S.S. Bradrick, M.A. Garcia-Blanco, E.E. Ooi // Viruses. — 2017. — No. 9(6). — P. 247–256.

16 Kuno G. Phylogeny of the genus Flavivirus / G. Kuno, G.J. Chang, K.R. Tsuchiya, N. Karabatsos, C.B. Cropp // J. Virol. — 1998. — No. 72 (1). — P. 73–83.

Т.И. Нурмаханов, Т.К. Ерубаев, Е.Б. Сансызбаев, Н.А. Туребеков,
К.С. Абдиева, Д.С. Усенбекова, О.У. Есходжаев, Б.К. Аймаханов,
Ж.С. Далибаев, М.В. Кулемин, М.А. Калмакова, А.И. Копкова

Кенелерді Қаршы, Тамды, Ыстықкөл қызбасы, Сырдария алқабының қызбасы вирустарын анықтаудың зерттеу нәтижелері

Қазақстанда Қырым-Конго геморрагиялық қызбасының табиғи ошақтары Түркістан, Қызылорда және Жамбыл облыстарының аумағында орналасқан. Алдын алу шараларының жүргізілуіне қарамастан, бұл ауру жыл сайын адамдар арасында анықталуда, сонымен қатар осы аумақта Қаршы, Тамды, Ыстықкөл қызбасы және Сырдария алқабының қызбасы сияқты вирустар тобы бар және олар туралы мәліметтер аз. Осыған байланысты Қырым-Конго эндемиялық геморрагиялық қызбасы аумақтарында Қаршы, Тамды, Ыстықкөл қызбасы және Сырдария алқабының қызбасы вирустарының таралуын анықтау, инфекцияның негізгі иесі мен тасымалдаушыларын анықтау мақсаты қойылды. Кенелер Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусының табиғи ошақтары болып табылатын жерлерде ұсталды. Ұсталған кенелердің түрлік құрамы 9 түрден тұрады: *Hyalomma scupense*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma turanicum*, *Hyalomma anatolicum*, *Haemaphysalis sucata*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor niveus*, *Rhipicephalus pumilio*, *Rhipicephalus schulzei*. Молекулярлық-генетикалық талдау әдісімен вирустарды анықтау үшін олигонуклеотидті праймерлерді таңдау және жобалау бойынша жұмыстар алдын ала жүргізілді. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде Түркістан облысының *H. asiaticum*, *H. scupense* кенелерінде Тамды вирусына және Сырдария алқабының қызбасына оң сынамалар табылды. Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусы Жамбыл және Түркістан облыстарынан келген *H. asiaticum* және *H. scupense* кенелерінде табылды.

Кілт сөздер: кенелер, вирустар, Қаршы, Тамды, Ыстықкөл қызбасы, Сырдария алқабының қызбасы, Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы, ПТР, ИФТ.

T.I. Nurmakhanov, T.K. Erubaev, E.B. Sansyzbaev, N.A. Turebekov,
K.S. Abdiyeva, D.S. Usenbekova, O.U. Eskhodzhaev, B.K. Aimakhanov,
Zh.S. Dalibaev, M.V. Kulemin, M.A. Kalmakova, A.I. Kopkova

Results of tick testing for detection of viruses of Karshi, Tamdy, Issyk-Kul fever, Syr Darya valley fever

In Kazakhstan natural foci of Crimea-Congo hemorrhagic fever is located on the territory of Turkestan, Kyzylorda and Zhambyl regions. Whereas preventive measures are taken, this disease is diagnosed annually among people, but there is a group of viruses such as Karshi, Tamdy, the Issyk-Kul fever virus and Syr Darya valley fever which are less known. In this regard the goal was set to identify the prevalence of viruses of Karshi, Tamdy, Issyk-Kul fever and fever of the Syr Darya valley in hemorrhagic fever endemic in the Crimea-Congo hemorrhagic fever to determine the main hosts and vectors of infection. Ticks captured in areas natural foci of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. The species composition of captured ticks was represented by 9 species: *Hyalomma scupense*, *Hyalomma asiaticum*, *Hyalomma turanicum*, *Hyalomma anatolicum*, *Haemaphysalis sucata*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor niveus*, *Rhipicephalus pumilio*, *Rhipicephalus schulzei*. Preliminary work was carried out on the selection and design of oligonucleotide primers for the identification of viruses by molecular genetic analysis. As a result of the studies, positive samples were found for viruses of Tamdy and Syr Darya valley fever in ticks *H. asiaticum*, *H. scupense* from the Turkestan region. The Crimean-Congo hemorrhagic fever virus was detected in *H. asiaticum* and *H. scupense* ticks from Zhambyl and Turkestan regions.

Keywords: ticks, viruses, Karshi, Tamdy, Issyk-Kul fever, Syr Darya valley fever, Crimea-Congo hemorrhagic fever, PCR, ELISA.

References

- 1 Benjiang, M.A., Changshou, H., & Papa A. (2011). Sequencing and comparative analysis of the complete glycoprotein gene of three Crimean-Congo hemorrhagic fever virus Chinese isolates. *Chinese J. Exp. Clin. Virol.*, 15; 105–111.
- 2 Lvov, D.K. (2008). Novye i vozvrashchayushchiesya infektsii — dremliushchii vulkan [Emerging and Re-Emerging Infections — a Dozing Volcano]. *Problemy osobo opasnykh infektsii — Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2; 5–6.
- 3 Shestakova, I.V. (2017). Infektsionnaya zabollevaemost v Rossiiskoi Federatsii v 2000–2015 gg.: uspek ili proval? [Infectious diseases in the Russian Federation in 2000–2015: success or failure?]. *Infektsionnye bolezni: Novosti. Mneniya. Obuchenie — Infectious Diseases: News. Opinions. Training*, 3; 20 [in Russian].
- 4 Taylor, L.H., Latham, S.M., & Woolhouse, M.E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356 (1411); 983–989.
- 5 Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451 (7181); 990–993.
- 6 Grazhdanov, A.K., Bidashko, F.G., & Pak, M.V. (2002). Prirodnaia ochagovost gemorragicheskoi likhoradki s pochechnym sindromom na zapade Kazakhstana [Natural focus of hemorrhagic fever with renal syndrome in the west of Kazakhstan]. *Meditsina — Medicine*, 4; 19–23 [in Russian].
- 7 Ilyasova, I.S., Matzhanova, A.M., Kulseitova, L.Zh., & Kariyeva, E.A. (2013). Uroven i dinamika zabollevaemosti Kongo-Krymskoi gemorragicheskoi likhoradki po Kyzylordinskoi oblasti v 2012 godu [The level and dynamics of the incidence of the Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Kyzylorda region in 2012]. *Okruzhaya sreda i zdorove naseleniia — Environment and public health*, 2D; 100 [in Russian].
- 8 Kyraubaev, K.K., & Medetov, Zh.B. (2013). O nekotorykh itogakh epidemiologicheskogo nadzora za Kongo-Krymskoi gemorragicheskoi likhoradki v Yuzhno-Kazakhstanskoi oblasti [On some results of epidemiological surveillance for the Crimean-Congo hemorrhagic fever in the South Kazakhstan region]. *Okruzhaya sreda i zdorove naseleniia — Environment and public health*. 2D; 52 [in Russian].
- 9 Tankibaev, M.A., Kim, A.A., Srymbetov, M.S., Karimov, S.K., & Kiryushchenko, T.V. (1993). Tsirkulatsii nekotorykh arbovirusov na territorii Tsentralnogo Kazakhstana [Circulation of some arboviruses in Central Kazakhstan]. Organization of work in diagnostic centers: *Nauchnaya konferentsiya — Scientific conference*. Karaganda [in Russian].
- 10 Alkhovskiy, S.V., Lvov, D.K., Schelkanov, M.Yu., Shchetinin, A.M., Deryabin, P.G., Samokhvalov, E.I., & Gitelman, A.K. et al. (2013). Taksonomiya virusa Issyk-Kul (Issyk-Kulvirus, iSKV; bunyaviridae, Nairovirus), vzbuditelia Issyk-Kulskoi likhoradki, izolirovannogo ot letuchikh myshei (Vespertilionidae) i kleshchei Argas (Carios) vespertilionis (Latreille, 1796) [Taxonomy of the Issyk-Kul virus (iSKV; bunyaviridae, Nairovirus), the causative agent of Issyk-Kul fever isolated from bats (Vespertilionidae) and Argas (Carios) vespertilionis ticks (Latreille, 1796)]. *Voprosy virusologii — Questions of virology*, 5; 11–12 [in Russian].
- 11 Lvov, D.K., Alkhovskiy, S.V., Schelkanov, M.Yu., Shchetinin, A.M., Deryabin, P.G., Gitelman, A.K., & Aristova, V.A. et al. (2014). Geneticheskaya kharakteristika virusa likhoradki doliny Syrdari (sDVFV — Syr-Daryavalleyfevervirus) (Picornaviridae, Cardiovirus), izolirovannogo ot cheloveka i kleshchei Hyalomma asiaticum (Hyalomminae), Dermacentor daghestanicus

(Rhipicephalinae) (Ixodidae) i Ornithodoro sconiceps (Argasidae) v Kazakhstane i Turkmenii [Genetic characteristics of the Syr-Darya valley fever virus (sDVFV) (Picornaviridae, Cardiovirus) isolated from humans and ticks Hyalomma as. Asiaticum (Hyalomma), Dermacentor dageshstanicus (Rhipicephalinae) (Ixodidae) and Ornithodoros coniceps (Argasidae) in Kazakhstan and Turkmenistan]. *Voprosy virusologii — Questions of virology*, 4; 17–19 [in Russian].

12 Kuhn, J.H., Wiley, M.R., Rodriguez, S.E., Bao, Y., Prieto, K., & Travassos da Rosa, A.P. (2016). Genomic Characterization of the Genus Nairovirus (Family Bunyaviridae). *Viruses*, 8(6); 240–247.

13 Calisher, C.H. (1988). Antigenic Classification and Taxonomy of Flaviviruses (Family Flaviviridae) Emphasizing a Universal System for the Taxonomy of Viruses Causing Tick-Borne Encephalitis. *Acta Virol.*, 32(5); 78–85.

14 Turell, M.J. (2015). Experimental Transmission of Karshi (Mammalian Tick-Borne Flavivirus Group) Virus by Ornithodoros Ticks >2,900 Days after Initial Virus Exposure Supports the Role of Soft Ticks as a Long-Term Maintenance Mechanism for Certain Flaviviruses. *Trop. Dis.*, 9 (8); 12–19.

15 Ng, W.C., Soto-Acosta, R., Bradrick, S.S., Garcia-Blanco, M.A. & Ooi, E.E. (2017). The 5' and 3' Untranslated Regions of the Flaviviral Genome. *Viruses*, 9 (6); 247–256.

16 Kuno, G., Chang, G.J., Tsuchiya, K.R., Karabatsos, N. & Cropp, C.B. (1998). Phylogeny of the genus Flavivirus. *J. Virol.*, 72 (1); 73–83.