

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘОК 578.832.1 (574)(043)

Қолжазба құқығында

БАЙҚАРА БАРШАГҮЛ ТЕҢІЗБАЙҚЫЗЫ

**Қазақстан Республикасы аумағында таралған құс тұмауы штаммдарын
генотиптеу**

8D05105 – Биотехнология

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындаған диссертация

Ғылыми кеңесшілер:
Отандық ғылыми кеңесші В.Ғ.Д.,
профессор Султанов А.А.

Шет елдік ғылыми кеңесші:
профессор, Аршат Сити Сури
(Путра университеті, Малайзия)

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2024

МАЗМҰНЫ

	НОРМАТИВТІ СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
	АНЫҚТАМАЛАР.....	5
	БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР.....	6
	КІРІСПЕ.....	7
1	ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ.....	13
1.1	Құс тұмауы вирусының жіктелуі.....	13
1.2	Тұмаудың А типті жоғары зардапты вирусының таралу тарихы	20
1.3	Жоғары зардапты құс тұмауы бойынша әлемдегі эпизоотологиялық жағдай.....	23
1.4	Елімізде тұмаудың А типі бойынша эпизоотологиялық жағдай.	24
1.5	Құстардың көші-қон жолының ауру таралуына әсері.....	27
1.6	Құс тұмауы вирусынан төнетін қауіп пен онымен күресу шаралары.....	32
2	ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ.....	33
2.1	Материал жинақталған орындар жайлы қысқаша ақпарат.....	33
2.2	Материалдар мен әдістер.....	33
2.2.1	Зерттелінген биологиялық материалдар мен изоляттар.....	33
2.2.2	Вирусологиялық зерттеу әдістері.....	34
2.2.2.1	Биологиялық материалды жинақтау мен дайындау.....	34
2.2.2.2	Иммуноферменттік талдау.....	35
2.2.2.3	Вирусты бөліп алу және клондау.....	35
2.2.2.4	Гемагглютинация реакциясы және гемагглютинацияның тежелу реакциясында диагностикалық сарысулар көмегімен вирусты анықтау.....	35
2.2.3.5	Вирустарды концентрациялау және тазалау.....	36
2.3	Молекулалық зерттеу әдістері.....	37
2.3.1	Рибонуклеин қышқылын бөліп алу.....	37
2.3.2	Кері транскрипциялы полимеразалық тізбектік реакция.....	37
2.3.3	Полимеразалық тізбектік реакция өнімдерін электрофорездік талдау.....	40
2.3.4	Вирустық геном сегментін Сенгер әдісі бойынша секвенирлеу..	40
2.3.5	Нуклеотидтік тізбекті филогенетикалық талдау.....	40
3	НӘТИЖЕЛЕР МЕН ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ.....	43
3.1	Су маңын мекендейтін және үй құстарынан биологиялық материалды жинақтау.....	43
3.2	Үй құстары сынамаларын имуноферменттік талдау.....	47
3.3	Мониторинг барысында жиналған сынамаларға ПТР жүргізу....	47
3.4	Тұмаудың А типі жаппай таралу уақытында жинақталған үлгілерге скрининг жүргізу.....	49
3.5	Бөліп алынған изоляттар геномын толық секвенирлеу.....	51
3.6	Қазақстандық H5 вирустарының HA және NA белогының генотиптік сипаттамасы мен эволюциялық қарым-қатынасы.....	53

3.7	A/220/2020 (H9N2) вирусының HA мен NA амин қышқылдық тізбегінің молекулалық сипаттамасы.....	61
3.8	A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының ішкі белоктарына сипаттама.....	67
3.9	H5 вирустарының ішкі белоктарын филогенетикалық талдау және молекулалық сипаттау.....	75
3.10	Қазақстандық изоляттардағы жаңа нүктелік мутациялар мен ішкі гендерін салыстыру.....	80
3.11	Құс тұмауын дифференциалды диагностикалауға арналған тест-жүйені жасап шығару.....	82
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	87
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ.....	89
	ҚОСЫМША А.....	104
	ҚОСЫМША Ә.....	105
	ҚОСЫМША Б.....	106
	ҚОСЫМША В.....	107
	ҚОСЫМША Г.....	108

НОРМАТИВТІ СІЛТЕМЕЛЕР

Осы диссертацияда келесі стандарттарға сілтеме қолданылды:

МЕМСТ 7.32-2001. «Ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есеп. Құрылымы мен әзірлеу ережелері».

МЕМСТ 7.1-2003. «Библиографиялық жазба, библиографиялық сипаттама. Жалпы талаптар мен құрастыру ережелері».

АНЫҚТАМАЛАР

Осы диссертацияда сәйкес анықтамалармен келесі терминдер қолданылды:

Антигендер – антиденелердің синтезін тудыратын және олармен арнайы өзара байланысқа түсуге қабілетті ағзаға бөтен жоғары молекулалық органикалық заттар.

Антиденелер – ағзада антигендердің әсерімен түзілетін арнайы белоктар.

Биоматериал – қандай да бір материалдан вирусты анықтау мақсатында оны сезімталдылығы жоғары және қабылдағыш жануарларға енгізу жолымен зерттеу.

Вируленттілік (латын тілінен virulentus – «улы») – микроорганизмдердің зардаптылық шамасы. Белгілі бір инфекциялық агенттің (микроорганизм немесе вирус штамының) ағзаның ауруын немесе өлімін тудыру қабілетінің деңгейі. Вируленттілік зардаптылық шамасы болып табылады.

Вирусологиялық зерттеулер – вирустарды анықтауға арналған сыртқы ортаның биоматериалдары немесе басқа да зерттеу нысандары.

Зақымдау – зардапты микроорганизмдердің жануар ағзасына енуі немесе енгізу.

Зардаптылық – микроорганизмнің зардапты процесті тудыру қабілеті.

Иммунизация – жануарды қандай да бір агентпен көп реттік иммунизациялау. Әдетте құрамында антиденелері жоғары сарысуды (гипериммунды сарысуды) алу мақсатында жүргізіледі.

Индикация – зерттеу материалында микроорганизмді анықтау.

Идентификация – микроорганизмнің түрлік тиістілігін (типтармағын) анықтау.

Иммунизация – белгілі бір инфекциялық ауруға арнайыландырылған жұқтырмаушылықты жасау.

Иммунитет – зардапты микробтар мен олардың токсиндерінің әсеріне арнайы жұқтырмаушылық күйі.

Штамм – бекітілген морфологиялық немесе биологиялық қасиеті бар бір түрдің микроорганизмдерінің дақылы.

Эпизоотикалық жағдай – жануарлардың инфекциялық ауруының бергілі бір аумақта нақты уақыт аралығында таралуын және аурудың таралуына немесе оны болдырмауға ықпал ететін барлық факторларды сипаттайтын мәліметтер жиынтығы.

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

ГАТР	гемагглютиндеуші агенттің тежелу реакциясы
ГБР	гемагглютиндеуші белсенділік реакциясы
ГАА	гемагглютиндеуші агент
ГГР	гемагглютинация реакциясы
ДДҰ	Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы
ДЖДҰ	Дүниежүзілік жануарлар денсаулығын сақтау ұйымы
ДНҚ	дезоксирибонуклеин қышқылы
ЖЗҚТ	жоғары зардапты құс тұмауы
ИФТ	иммуноферменттік талдау
КТ-ПТР	кері транскрипциялы полимеразалық тізбектік реакция
ҚТВ	құс тұмауы вирусы
МЕМСТ	мемлекеттік стандарт
ОҚУ	орташа қырылу уақыты
ПТР	полимеразалық тізбектік реакция
РНҚ	рибонуклеин қышқылы
ТЗҚТ	төменгі зардапты құс тұмауы
ТЭ	тауық эмбрионы
ЭИД	эмбрионалды инфекциялаушы доза
PB2	полимераза 2
PB1	полимераза 1
РА	қышқыл полимераза
НА	гемагглютинин
NP	нуклеопротеид
NA	нейраминидаза
М	матриксті белок
NS	құрылымдық емес белок
t °C	Цельсий бойынша температура

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы: Жұмыс Қазақстан Республикасы аумағында 2020-2022 жылдар аралығында айналымдағы жабайы және үй құстарындағы құс тұмауы вирусын анықтау мен бөліп алуға, олардың таралуы мен эволюциясын тану үшін вирусологиялық және молекулалық-биологиялық қасиеттерін зерттеп, филогенетикалық туыстық белгілерін анықтауға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі: Құс шаруашылығы Қазақстанның агроөндірістік кешеннің маңызды құраушыларының бірі болып табылады және оның өнімдеріне деген сұраныс жылдан-жылға артуда. Құс шаруашылығының негізгі бағыты - жұмыртқа мен ет. Қазақстан Республикасының Статистика комитетінің мәліметі бойынша 2023 жылдың 1-қаңтарындағы ахуал бойынша елімізде шамамен 50 млн. бас үй құсы болды [1].

Құс фабрикаларындағы тұмау ауруының таралуы әдетте үй құстарының барлық популяциясының толықтай жойылу себебінен, барлық дүние жүзі бойынша елеулі экономикалық шығындарға әкеп соқтыруда. Қоныс аударатын құстар, әсіресе суда жүзетіндер, құс тұмауы вирусының табиғи резервуары болып табылады. Осылайша, инфекция суқоймаларға түсіп, одан кейін суда жүзетін құстар арқылы үй құстарына жұғуы мүмкін. Табиғатта бір құс құс тұмауының бірнеше типтармағын жұқтырған болуы мүмкін, ол реассортациялануға мүмкіндік тудырады, нәтижесінде құс тұмауының жаңа типінің пайда болуына ықпал етеді. Олардың маусымдық қоныс аударуы вирус популяциясының генетикалық құрылымының қалыптасуында маңызды рөл атқарады. Бұл тұмау вирусының эволюциясы жайлы өзекті білімді жалғастырып және жаңа эпизоотикалық және эпидемиялық ауру ошақтарын алдын алу үшін әр түрлі аумақтарда үнемі мониторинг жүргізуді талап етеді.

Құстар арасында тараған вирустық инфекциялардың ішінде, жоғары контагиоздылығы мен емделу деңгейі жоғары болғандықтан, құс тұмауын ерекше атап өткен жөн. Дүниежүзілік жануарлар денсаулығын сақтау ұйымы (ДЖДҰ) эпизоотологиялық жіктеуі бойынша құстардың жаппай қыратын аса қауіпті аурулардың қатарына жоғары зардапты құс тұмауы (ЖЗҚТ) жатады.

Дүние жүзінде құс тұмауы індеті шиеленіскен күйде. Эпизоотикалық жағдайдың мониторингі ауыл шаруашылық құстарының арасында құс тұмауының пайда болуы мен таралуын алдын-алу бойынша эпизоотикаға қарсы іс-шаралардың негізгі элементі болып табылады. Құс тұмауының кейбір түрлері зоонозды жұқпа болуы мүмкін, сондықтан да Қазақстанның құс шаруашылығына елеулі қатер тудырады. Құс тұмауы вирусы (ҚТВ) жаңа типтармағы мутация мен реассортация жолымен үнемі дамып отыратындықтан, жануарлардың денсаулығы мен өнімділігіне айтарлықтай әсер етеді [2].

Жаппай тіркеліп отырған құс тұмауының өршуі ҚТВ таралуын бақылау қажеттілігіне ерекше көңіл аудартады және уақытылы тиімді алдын-алу шараларын жүргізуді талап етеді.

Қазақстан аумағы Еуразия құрлығының түпкірінде, Орталық Азияда орналасқан, Ресей Федерациясымен ортақ шекарасы бар, оңтүстікте Қырғызстан, Өзбекстан мен Түрікменстанмен, оңтүстік-шығысында Қытаймен шекараласады. Елдің аумағы бойынша 8,5 мың өзен ағып өтеді, олардың ішінде

23 ұзындығы 500-1000 км астам, сегіз өзен трансшекаралық болып табылады, яғни Қытай, Ресей, Өзбекстан, Түрікменстан, Қырғызстан сияқты іргелес мемлекеттермен ортақ ағысы бар. Республика аумағында ауданы 1 км² аз көлдерді де қосқанда, 48 мың көл бар, ел ауданының 1,2% батпақты жер алып жатыр [3].

Көптеген өзендері, көлдері мен сулы-батпақты алқаптары болғандықтан, жабайы қоныс аударатын құстардың негізгі көшіп-қону жолдарының өтуінен Қазақстан аумағының ландшафты ерекшелігі елдің эпизоотиялық қолайлылығын күрделендіретін факторлар болып табылады.

Сондықтан елдің тұрақты эпизоотиялық қолайлылығын қамтамасыз ету және жұқтырушы агентпен тиімді күресу үшін үнемі бақылау және уақытылы диагностика қажет.

Вирустың таралуына мерзімдік көшіп-қону уақытында кездесетін көптеген құстардың ұя салу ареалының ауқымдылығы ықпал етеді. Еліміздің аумағында 500 шамалас құс түрлері мекен етеді [4], олардың ішінде 130 түрі ұя салу, түлеу, маусымдық көшіп қону мен қыстау мерзімінде ұшып келеді. Ұя салатын құстар түрінің жыл сайынғы саны 10 миллионға жетеді, түлеуге 2-3 миллион құс ұшып келеді, ал шамамен 50 миллион қоныс аударатын құстар көктемгі және күзгі көшіп-қону уақытында суқоймаларға тоқтайды. Сонымен қатар қоныс аударатын құстар еліміздің барлық дерлік аумағына ұшып келеді және ұя салады [5]. Сондықтан да әр түрлі шалғай жатқан аудандардан келген құстарда тұмаудың А вирусының туыстық жақын штамдары анықталады және, керісінше, вирустың әр түрлі нұсқалары шектелген аумақта бөлінуі мүмкін. Бұл жарияланған зерттеулердегі ауру таралуының реттілігі мен сипаты, филогенетикалық талдау деректерімен дәлелденуде [6-9].

Өкінішке орай, Қазақстанда құстардың қоныс аудару сипаты жайлы жағдайға айтарлықтай егжей-тегжейлі тәжірибелік зерттеу жасалмаған. Құстардың орын ауыстыруы туралы қолда бар талдаулар көпшілігі көзбен бақылау негізінде жасалынғандығын дәлелдейді. Қазақстанның ұлан ғайыр аумағы мен бақылаудың аздығын ескергенде, ол бақылаулар құстардың миграциясы мен олардың ұя салуына қатысты мәселелерге толыққанды жауап бере алмайды [10]. Сондықтан да болашақта біздің осы мәселе төңірегінде терең зерттеулер жасап, ҚТВ таралу динамикасына мониторинг жүргізе отырып, оны болдырмау жолдарын қарастыруды қолға алу ойымызда бар.

Зерттеу мақсаты: 2020-2022 жылдар аралығында Қазақстан Республикасында жабайы және үй құстары арасында тараған құс тұмауы штамдарына молекулалық-биологиялық және филогенетикалық талдау жүргізу.

Зерттеу міндеттері:

1. Қазақстанның әр түрлі өңіріндегі миграция жолына жақын орналасқан жеке шаруашылық қожалықтардағы үй құстарының ҚТВ мониторингін жүргізу, жинақталған сынамаларға серологиялық және молекулалық-биологиялық скрининг өткізу.

2. ҚТВ тараған аймақтардағы ауру құстардан сынама жинап, ПТР скрининг жүргізу арқылы вирустың типтармағын анықтау.

3. Вирус штамдарын құс эмбриондарында өсіру арқылы бөліп алу және толық геномын Сенгер әдісімен секвенирлеу.

4. Зерттелінген ҚТВ штамдарының барлық сегіз геніне филогенетикалық талдау жүргізу және олардың зардаптылығын айқындау мақсатында молекулалық маркерлерді анықтау.

5. ҚТВ штамдардың биологиялық қасиеттері мен өзара туыстық байланысын салыстырмалы зерттеу.

6. ҚТВ диагностикалауға арналған ПТР тест-жүйе жасап шығару.

Зерттеу нысаны: ауырған құстардың тұмсық-жұтқыншақ пен клоака жағындылары, сондай-ақ патологиялық материалдан бөліп алынған А типті құс тұмауы вирусы (*Influenzavirus*).

Зерттеу әдістері: Зерттеу барысында вирусологиялық, серологиялық (иммуно-ферменттік талдау, ГПР, ГАТР және т.б.), молекулалық (полимеразалық тізбектік реакция, секвенирлеу) зерттеу және биоинформатикалық (Clustal W algorithm, “көршіге қосу” әдісі, Tamura-Nei үлгісі, BLASTn талдау) талдау әдістері қолданылды.

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы.

- 2020-2022 жылдар аралығында Қазақстан Республикасындағы жабайы құстардың көшіп-қону аймағына жақын орналасқан алты облыстың жеке шаруашылық қожалықтарындағы құстарда ҚТВ мониторингі жүргізілді;

- жабайы және үй құстарынан ҚТВ жаңа өзекті штамдары бөлініп алынып, олардың өзара және ғылымда сипатталған генотиптер арасындағы молекула-генетикалық қарым-қатынасы анықталды;

- ҚТВ ауырған құстардан бөлініп алынған төрт штамы геномын толық секвенирлеу жүргізіліп, оның нәтижесі бойынша филогенетикалық талдауы мен молекула-генетикалық сипаттамасы жүргізілді;

- алғаш рет ҚТ қазақстандық H9N2 типтармағына жататын штамм үй құсынан бөлініп алынды;

- зерттелінген штамдар геномына бұған дейін тіркелмеген жаңа бірегей нүктелік мутациялар анықталынды;

- ҚТВ H5N8 типтармағын анықтайтын нақты уақыттағы ПТР тест-жүйесі жасалынып, оған патент алынды.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы мен практикалық құндылығы.

1. 2020-2022 жылдар аралығында бөлініп алынған қазақстандық ҚТВ штамының толық геномының нуклеотидтік тізбегі «GenBank» ақпараттар базасында тіркелді.

2. Геномы толық секвенирленген A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8), A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 (H5N1), A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (H5N1) және A/Chicken/Almaty/220/2020 (H9N2) штамдарын Қазақстанда және көршілес елдерде тіркелген штамдармен салыстыра отырып, ҚТВ таралу жолдарын анықтау.

3. Қазақстанда алғаш рет үй құсынан тұмаудың H9N2 типтармағы бөліп алынып, оның геномы толық секвенирленді және сүтқоректілерге жұғуын арттыратын молекулалық маркерлері анықталынды.

4. Пайдалы модельге 2 патент алынды: №7497 «Құс тұмауы вирусын анықтау және дифференциалдауға арналған реал тайм ПТР тест-жүйесін жасап шығару әдісі» мен №8586 «Диагностикалық препараттар мен вакцина дайындау үшін пайдаланылатын 2.3.4.4b генотипіне жататын А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1) құс тұмау вирусының штамы» (2024).

5. Жоғары зардапты құс тұмауы бойынша болжау әдістемелері, қағидалары мен тәртібіне арналған ұсыным шығарылды.

Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:

1. Жабайы және үй құстарынан ҚТВ изоляттары бөліп алынды, олардың биологиялық қасиеттері мен генотиптік сипаттамалары анықталынды.

2. 2020 және 2022 жылда анықталған төрт қазақстандық изолятқа молекулярлық және филогенетикалық талдау жүргізілді.

3. Филогенетикалық талдау мәліметтері бойынша Қазақстан Республикасының аумағында ҚТВ үш генотипі анықталды, олар H5N1, H5N8 және H9N2 типтармағына жатады.

4. A/Chicken/Almaty/220/2020 (H9N2) вирусының НА белогының 63-65 орнында Қытайда тараған үй құстарының эпидемиясын тудырған A/Duck/HongKong/Y280/97(H9N2) штаммында табылған зардаптылығы жоғары вирус маркері болып табылатын TEI (треонин (Т), глутамин қышқылы (Е) мен изолейцинді (І) кодтайтын) амин қышқылдарының делециясы табылды.

5. Зерттелген төрт изоляттың геномында вирустың сүтқоректілерге жұғуына ықпал ететін молекулалық маркерлер мен бұған дейін тіркелмеген нүктелік мутациялары анықталынды.

Тақырып пен жоспарлар институттардың ғылыми-зерттеу жұмыстарымен байланысы. Диссертациялық зерттеу жұмысы 2020-2022 жылдар аралығында Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринарлық институтының вирусология зертханасында (Қазақстан Республикасының Ауылшаруашылық министрлігінің бағдарламалық мақсатты қаржыландыру №BR10764899-ОТ-22 «Жоғары зардапты құс тұмауы бойынша ел аумағындағы эпизотиялық сипаттамасын зерттеу және олардың тиімділігін арттыру бойынша ветеринарлық-санитарлық шараларды жасап шығару» және №BR10764975-ОТ-22 «Құс тұмауын дифференциальды анықтауға арналған тест-жүйені өндіріске жасап шығару және ұсыну» жобаларының аясында) мен Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығының вирустар экологиясы зертханасы (№AP19678255 «Қазақстанда құстар мен сүтқоректілер арасында таралған А типті құс тұмауының табиғи түрлерінің эпидемиялық әлеуетін зерттеу») жүргізілді.

Жұмыстың сыннан өтуі. Зерттеу материалдары бойынша ашық баспасөзде 12 ғылыми жарияланым жарияланды. Оның ішінде 2 мақала Thomson Reuters деректер базасына енгізілген; Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым саласында сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған республикалық ғылыми журналдарда 5 мақала; конференция материалдарында 1 тезис; Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринарлық институтының журналында 1 мақала. Жоғары зардапты құс тұмауы вирусының таралуын

болжау бойынша әдістемелік нұсқаулық шығарылды. Сондай-ақ пайдалы модельге 2 патент - №7497 (2022) және №8586 (2024) алынды.

Жарияларымдар.

1. Карабасова А.С., Маманова С.Б., Садуакасова М.А., Байкара Б.Т. Эпизоотическая ситуация по гриппу птиц в мире и в Казахстане // Проблемы теории и практики современной ветеринарной науки. – 2020. – Т. 66. - 149-161 б.
2. Байкара Б.Т., Садуакасова М.А., Карабасова А.С.. Эпизоотологический мониторинг гриппа домашней птицы города Семей // Международной конференции студентов и молодых учёных «ФАРАБИ ӘЛЕМІ». – 2021. – 235 б.
3. Байкара Б.Т., Садуакасова М.А., Карабасова А.С., Жусупбеков Ж.С., Султанов А.А. Эпизоотологический мониторинг гриппа домашней птицы // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2021. - №3 (88). - 79-86 б. <https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.08>
4. Сұлтанов А.А., Садуакасова М.А., Байқара Б.Т., Бегасыл К.С. Дүние жүзі және Қазақстан бойынша құс тұмауының қысқаша эпизоотиялық жағдайы, аурудың таралу жолдары. Вирустың өзгергіштігі // Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы. Ғылым және білім. “Қазіргі көзқарас жағдайындағы ғылым мен білімді дамытудың өзекті мәселелері” XXII халықаралық ғылыми-практикалық конференцияның материалдары. – 2022. – №2 (67) 2022 журналға қосымша №1. – 352-359 б.
5. Байқара Б.Т., Садуакасова М.А., Жусупбеков Ж.С., Бегасыл К.С., Султанов А.А. Құс тұмауы, ҚТВ-ның таралуы және тараған ошақтан жинақталған сынамаларды тест-жүйе құрастыруда пайдалану // ҚазҰУ Хабаршысы. Биология сериясы. – 2023. - №1 (94). - 68-80 б. <https://doi.org/10.26577/eb.2023.v94.i1.06>
6. Baikara B., Seidallina A., Baimakhanova B., Kassymbekov Y., Sabyrzhan T., Daulbaeva K., Nuralibekov S., Khan Y., Karamendin K., Sultanov A. and Kydyrmanov A. Genome Sequence of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) // Microbiol Resour Announc. – 2023. - 12(6):e0115122. doi: 10.1128/mra.01151-22.
7. Байқара Б.Т., Садуакасова М.А., Акшалова П.Б., Султанов А.А. Құстар миграциясының құс тұмауы вирусының Қазақстанда таралуына әсері // Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ Хабаршысы. Биология ғылымдары сериясы. – 2023. - №4 (145). – 7-18 б.
8. Байқара Б.Т., Касымбеков Е.Т., Хан Е.Я., Даулбаева К.Д., Нуралибеков С.Ш., Сабыржан Т.Б., Fereidouni S.R., Карамендин К.О., Кыдырманов А.И. Молекулярно-генетическая характеристика высокопатогенного штамма вируса гриппа птиц A/Mute swan/Mangystau/9421/2022, изолированного от зимующих птиц на побережье каспийского моря // Микробиология және вирусология. - 2023. - №3 (42). - 125-140 с. doi: 10.53729/MV-AS.2023.03.08
9. Акшалова П.Б., Кыдырманов А.И., Байкара Б.Т. Тулепов Б.С. Зонирование и регионализация территории Республики Казахстан с учетом

анализа рисков заноса и возможности распространения высокопатогенного вируса гриппа птиц (методическое руководство). Алматы. – 2023. – 14 с.

10. Kydyrmanov A., Karamendin K., Kassymbekov Y., Daulbaeva K., Sabyrzhan T., Khan Y., Nuralibekov S., Baikara B., Fereidouni S.R. Mass Mortality in Terns and Gulls Associated with Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Caspian Sea, Kazakhstan // Viruses. – 2024. -16, 1661. doi: 10.3390/v16111661

11. Пайдалы модельге патент: №7497 Садуакасова М.А., Султанов А.А., Маманова С.Б., Жусупбеков Ж.С., Байқара Б.Т. «Құс тұмауы вирусын анықтау және дифференциалдауға арналған реал тайм ПТР тест-жүйесін жасап шығару әдісі» (2022).

12. Пайдалы модельге патент №8586 Кыдырманов А.И., Карамендин К.О., Даулбаева К.Д., Касымбеков Е.Т., Хан Е.Я., Байқара Б.Т., Сабыржан Т.Б., Нуралибеков С.Ш. Диагностикалық препараттар мен вакцина дайындау үшін пайдаланылатын 2.3.4.4b генотипіне жататын А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1) құс тұмау вирусының штаммы (2023) (авторлық куәлік №110552)

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 114 бетінде ұсынылған және белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен әдістерден, нәтижелер мен талқылаудан, қорытындылардан, 186 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен 18 кестеден, 31 суреттен және 5 қосымшадан тұрады.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Құс тұмауы вирусының жіктелуі

Ауруды алғаш рет Италияда Эдуардо Перрончито (1878) «тауықтың сүзегі» деген атпен сипаттады. Аурудың қоздырушысы вирус екендігін 1901 жылы Чентани дәлелдеді, 1951 жылы бұл вирус «Тұмау вирусы», ал ауру «тұмау» деп аталатын болды. Тарихта ауру тез таралуымен, шыққан жерінде мыңдаған құстардың қырылуымен және де миллиондаған доллар шығын әкелуімен көрініс тапқан. Мысалы ретінде тарихқа қысқаша көз жүгіртсек:

- Америка Құрама Штаттарында (АҚШ) (1983-1985 ж.) алғашқы індеттер шағын құс фабрикаларында және тірі құс базарларында байқалды. Бірнеше айдан кейін вирус мутацияға ұшырап, жоғары зардапты құс тұмауы ретінде сипаттала бастады. Нәтижесінде 17 миллион құс қырылып, экономикалық шығын 60 миллион долларды құрады.

- 1994-1995 жылдар аралығында құс тұмауының вирусы төмен зардапты түрінде Мексиканың 11 штатында тіркелді. Екі жылдан кейін вирус мутацияға ұшырады, оның зардаптылығы жоғарылап, құстың жаппай қырылуына әкелді. Эпидемиядан келген экономикалық шығын 10 миллион долларды құрады.

- Италияда 1999 жылы вирустық инфекция елдің солтүстік бөлігіндегі тоғыз аймаққа таралды. Инфекцияның одан әрі таралуын болдырмау үшін билік 413 фермада 13 миллион құстың көзін жойды. Қоздырғышы адамдарға тікелей қауіп төндірмейтін H7N1 штамы екендігі анықталды [11].

Тұмау ауруын *Orthomyxoviridae* тұқымдасының *Influenza virus* туысына жататын вирустар тудырады. Құс тұмауы вирусы (ҚТВ) туыстық А, В, С және D типтеріне бөлінеді [12]. Бұл типтердің өкілдері эпидемиялық және эпизоотологиялық маңыздылығымен ерекшеленеді. Құс тұмауының А типі - адамдар, жануарлар мен құстар үшін қауіп төндіреді [13]. Бұл тұмау вирусы өзінің зардаптылығымен сипатталады, сонымен қатар ол тударатын ауру жаппай қырушы жоғары асқынған күйде өтеді. В типіне жататын тұмаудың қоздырғышы әдетте адамға жұғады және тек жекелеген жағдайларда ғана жануарларда ауру тудырады. Вирустың С типі тудыратын тұмау сирек тіркеледі және ауру өршуі кездейсоқ жағдайлармен сипатталады [14]. Ол адамдар, шошқалар, түйелер мен иттерге індет жұқтыратындығы белгілі [15]. А және В тұмау вирусына қарағанда С тұмау вирусы тудыратын ауру әдетте жеңіл өтеді. Бірақ соңғы жылдары С тұмау вирусын жұқтырған балаларда ауру асқынған күйде өтетіндігі, вирусқа арналған арнайы терапевтикалық құралдар мен екпелердің болмауы алаңдатушылық тудырды [16]. Жақында табылған тұмаудың D вирусы шошқалар мен ірі қара малдан бөлініп алынды. Адамдарға жұққандығы жайлы вирусологиялық расталған жағдай тіркелмеген, бірақ ірі қара малмен байланысқан тұлғаларда тұмаудың D вирусына антидене табылған. Тұмаудың С және D вирустары тұмаудың А немесе В вирустарына қарағанда бір бірімен эволюциялық тығыз байланысты [16].

А, В, С және D тұмаулары адамдар, жануарлар мен құстарда пандемиялық та, маусымдық та ауруларды тудыратын, *Orthomyxoviridae* тұқымдасының ең маңызды өкілдері болып табылады. А типті құс тұмауы геномы рибонуклеин

қышқылды (РНҚ-лы) бір тізбекті сегменттелген қабыршақты вирус болып табылады (кесте 1). Оларды гемагглютинин (НА) мен нейраминидазаның (НА) гликопротеиндерінің антигендік қасиетінің негізінде типтармақтарға жіктейді [17, 18]. Керісінше, тұмаудың С және D вирустар типі сәйкесінше жеті сегменттен тұрады, ол НА де, сонымен қатар НА да қызметін бойына сыйғызған бір ғана гликопротеин, гемагглютинин-сетереза (HEF) белогын кодтайды [19-21].

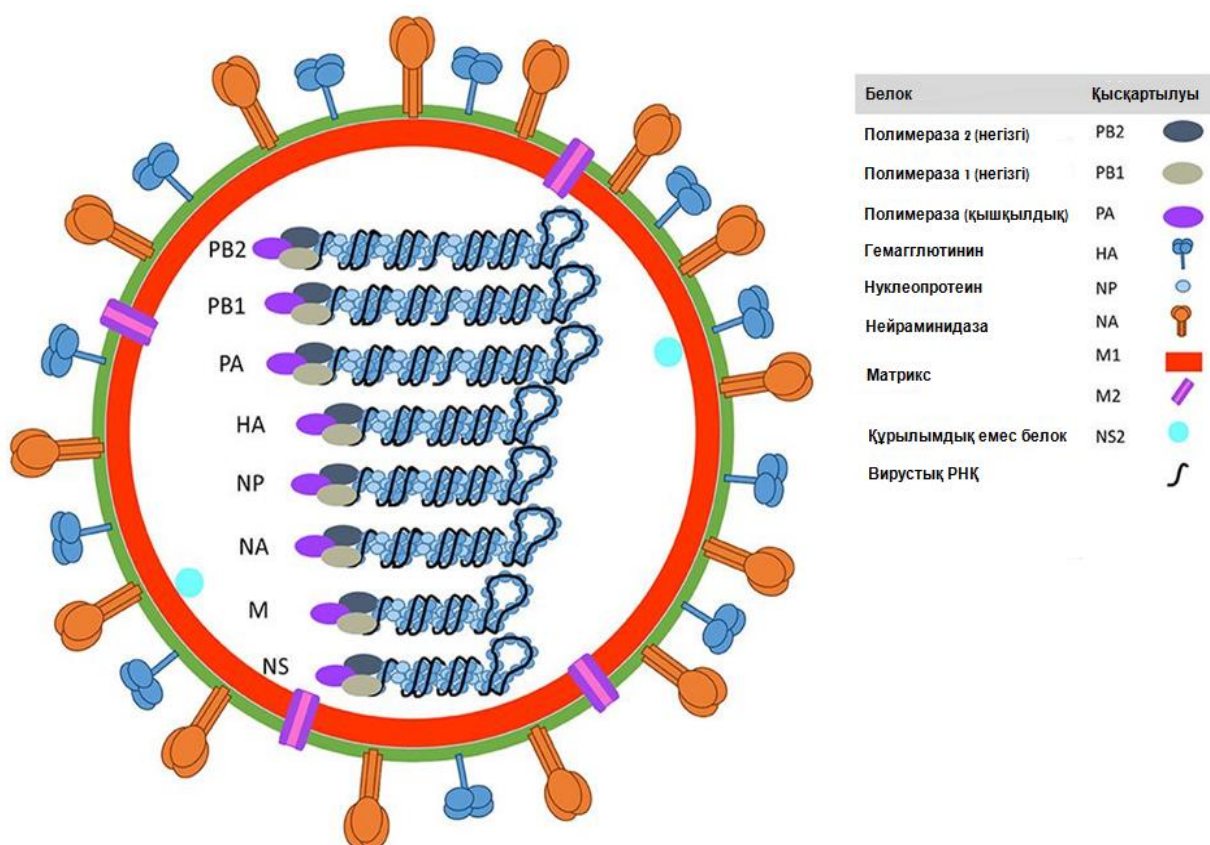
Кесте 1 – Тұмау вирусының сипаттамасы

	Вирустың А типі	Вирустың В типі	Вирустың С типі	Вирустың D типі
Қожайыны	Адам, суда жүзетін құстар, үй құстары, шошқа, жылқы, су сүтқоректілері, жарқанат	Адам, итбалық	Адам, шошқа, түйе, ит	Шошқа, ірі қара мал
Гендік сегменті	8	8	7	7
Белоктары	11	11	9	9
Антигендік анықталуы	НА мен NA	НА мен NA	HEF	HEF
Генетикалық өзгеруі	Нүктелік мутация мен реассортация	Нүктелік мутация	Нүктелік мутация	Нүктелік мутация
Клиникалық ерекшелігі	Бір қалыпты немесе асқынған ауру	А типіне қарағанда жеңілрек	Көп жағдайда субклиникалық	Көп жағдайда субклиникалық
Эпидемиологиялық ерекшелігі	Пандемиялық және маусымдық эпидемия	Маусымдық эпидемия	Індет тудырмайды	Індет тудырмайды

А типінің тұмау вирусы өзінің зардаптылығымен сипатталады, сонымен қатар ол тударатын ауру жаппай қырушы жоғары асқынған күйде өтеді. РНҚ геномындағы молекулалық өзгерістер екі негізгі механизм арқасында өтеді: нүктелік мутация (антигендік дрейф) және РНҚ сегменттерінің реассортациясы (антигендік өзгеріс). Нүктелік мутациялар вирустың антигендік сипатына болмашы өзгерістер енгізеді және А тұмауына қарсы жыл сайынғы вакцина салудың негізгі себебі болып табылады. Ал реассортация қожайын клетка А типінің екі немесе одан да көп вирустарымен зақымдалған жағдайда орын алады, ол жаңа типтармақтың пайда болуына әкеп соғады. В типіне жататын тұмаудың қоздырғышы әдетте адамға жұғады және тек жекелеген жағдайларда ғана – жануарларда ауру тудырады. Вирустың С типі тудыратын тұмау сирек тіркеледі және ауру өршуі кездейсоқ жағдайлармен сипатталады. Тұмау вирусының жоғарыда айтылған төрт типінің сипаттамасы кесте 1 келтірілген [22].

ҚТВ сегіз гендік сегменті бар, теріс тізбекті РНҚ-лы вирус (сурет 1), PB2 (полимераза), PB1 (зардаптылыққа жауап беретін белок), PA (қышқыл полимераза), НА, NP (нуклеопротеин), NA, М (мембраналық-құрылымдық

белок), және NS (интерферонның синтезіне кедергі болатын құрылымдық емес белок). Вирустың сыртында үш негізгі қаптаушы белоктар – HA, NA және матриксті 2 белок (M2) орналасқан [23]. Олардың арасында HA мен NA ең маңыздысы болып табылады және осы вирустардың зардаптылығы үшін шешуші рөл атқарады. HA гені вирус бөлшегінің рецептор-қожайынға жабысуын реттейді, ал NA гені вирус ұрпағының қожайын-клеткаға кіруін реттейді. Шошқаның екі немесе одан да көп тұмаудың A вирусы штамдарымен коинфицирленуі, рекомбинацияны туындатуы мүмкін [24], ол өз кезегінде, тұмау вирусының жаңа штамдарының пайда болуына ықпал ете алады [25]. Қате жасауға бейім РНҚ-полимераза арқасында пайда болған, репликация кезінде түзету мен жөндеу мүмкіндігі жоқ нүктелік мутациялар да тұмау вирусының генетикалық алуан-түрлілігін толықтырып отыруы мүмкін [26]. Реассортация механизмдері мен нүктелік мутациялар HA мен NA гендерінде «антигендік қозғалыс» пен «антигендік жылжуға» әкеп соғуы мүмкін, сәйкесінше, ол тұмау вирусының жаңа типтармағы мен линияларының пайда болуына ықпал етеді [27, 28]. М гені матриксті де, мембраналық та белоктарды кодтайды және көптеген қызмет атқарады (мысалы, вирустық бөлшектердің түзілуіне, қожайынның иммундық жүйесімен танылады). М гені (1027 жұп нуклеотидтен тұрады) екі белокты, атап айтқанда M1 мен M2 кодтайды [29].

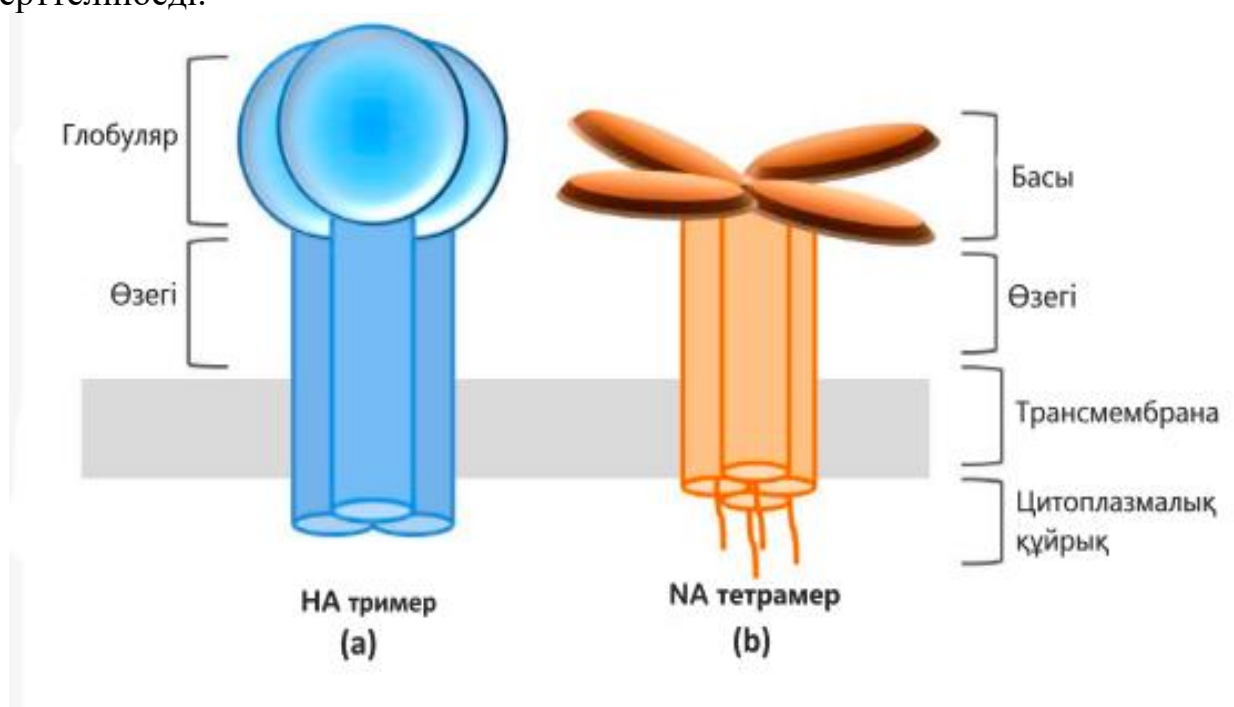


Сурет 1 - ҚТВ вирионының құрылымы [30]

HA де және NA да әдетте клетка бетіндегі гликопротеиндер мен гликолипидтермен байланысатын сиал қышқылымен өзара байланысады [31].

НА клетка рецепторларымен ұсынылған сиал қышқылының қалдығымен байланысып, вирусты эндоцитоз көмегімен клеткаға енуін процесін іске қосады [32]. НА екі доменнен тұрады: спираль өзекті мембраналық домен мен сиал қышқылын байланыстырушы қалташасы бар глобулярлы домен (“басы” деп аталады) (сурет 2 а). НА 19 типтармағының рецепторлармен байланысу бағдары әр түрлі, сонымен қатар НА сиал қышқылын байланыстыратын қалташасының құрылымындағы болмашы өзгерістер сиал қышқылымен байланысу ерекшелігінің өзгеруіне әкеп соғуы мүмкін [33].

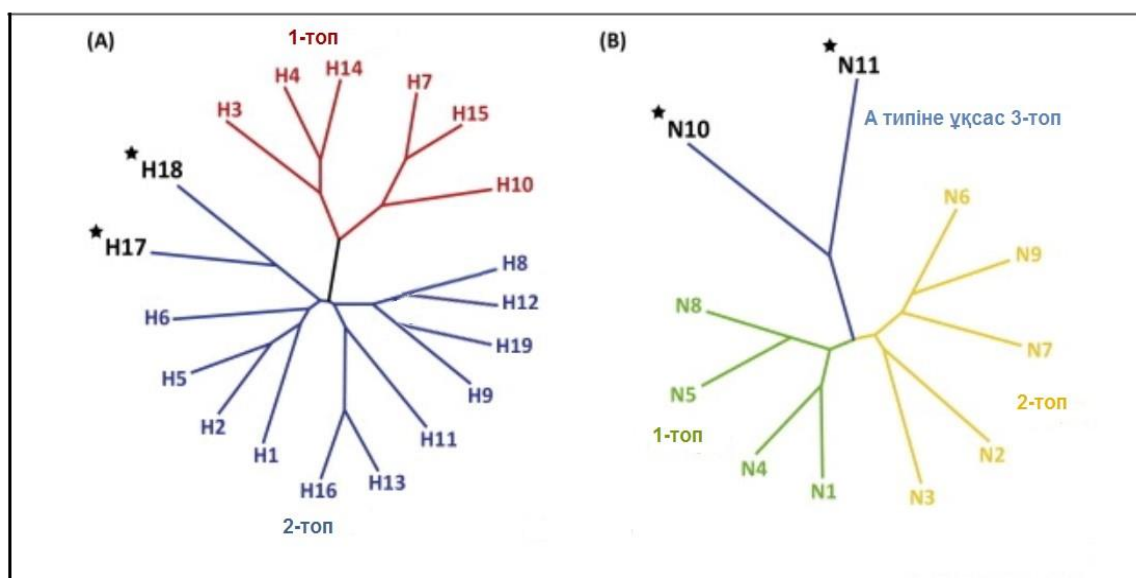
ҚТВ Н5 және Н7 типтармақтары негізінен мутациялардың арқасында үй құстары (тауық пен түйетауық) үшін жоғары зардаптылықты көрсетеді. Ол мутациялар НА0 бастапқы белоктың НА1 және НА2 домендерінің арасындағы байланыстырушы пептидте бірнеше негізгі амин қышқылдарының түзілуіне әкеп соғады [27]. ҚТВ түрлік тосқауылдан өтіп, адамға тікелей жұға алмайтындығы мен ҚТВ адамға түр аралық жұғуы үшін шошқа аралық қожайын ретінде болады немесе реассортантты вирустарды құру үшін араластырғыш құты ретінде қажет деп есептелінді [12, 26]. Бірақ 1997 жылы 18 адамға Н5N1 ҚТВ жұғып, 6 адамның мерт болғандығын хабарлады [25]. Қазіргі уақытта ҚТВ тек Н5N1, Н7N7, Н7N3 және Н9N2 типтармақтары адамға тікелей жұғу мен адамда ауру тудыру қабілетіне ие екендігі белгілі [9]. Сонда да Н5N1 типтармағының нақты генотиптері (мысалы, 2.3.4.4b) түрлік тосқауылдан өтіп, адамнан басқа да сүтқоректілерге жұғу ықтималдылығы егжей-тегжейлі зерттелінбеді.



Сурет 2 - НА мен NA құрылымы. (а) Өзегі НА тримерінен құралған. НА әр мономері екі функционалды доменнен тұрады: рецепторлармен байланысатын глобулярлы домен мен спиральдарға бай сабақты домен. (b) NA тетрамерлі түрдегі төрт бірдей ұқсас мономерлер түрінде болады. НА әр мономері төрт жекелеген құрылымдық домендер – каталитикалық басы, сабағы, трансмембраналық ауданы мен цитоплазмалық құйрықтан тұрады [43].

NA керісінше сиал қышқылын клетка рецепторларынан шеттетеді және зақымдаудың қорытынды сатысында жаңадан синтезделген қалыптасып жатқан вириондар ұрпағының тиімді босап шығуын қамтамасыз етеді [34]. Вирустың мембранасына енуі кезінде NA гомотетрамер түрінде жинақталады, сонымен қатар мономерлердің әрқайсысы төрт жеке құрылымдық домендерге жиналады: цитоплазмалық құйрық, трансмембраналық аудан, өзегі мен каталитикалық басы [35] (сурет 2 б). ҚТВ барлық типтармағы үшін 100% консервативті тізбектен тұратын цитоплазмалық құйрық NA тасымалы мен енуі кезінде күрделі қызмет атқарады [36-38]. NA әр түрлі типтармағының сабақтық домендері – амин қышқылдық қалдықтарының саны мен тізбегі, сәйкесінше, ұзындығы бойынша біршама ерекшеленеді, ол вирус мембранасынан қаншалықты көп немесе аз шығып тұруына байланысты болады. Бұл ерекшеліктер NA ферменттік белсенділігі мен вируленттілігіне әсер етеді [36, 39, 40]. Каталитикалық бас домен вирустың отыруын болдырмай, сиал қышқылын жақын жатқан мембраналық гликопротеиндерден ажырату қабілетіне ие [41, 42].

Жаңадан бүршіктелген вириондарды қожайын клеткадан босатудағы NA қызметі егжей-тегжейлі зерттелінген, бірақ NA ҚТВ енуіндегі қызметі жете бағаланбаған [44, 45]. ҚТВ клеткаға енуінде NA екі жолмен қатысуы болжанған: біріншісі, NA рецептор-байланыстырушы қызметін толықтыра отырып, NA рецептормен тікелей байланысуына қатысуы мүмкін; екіншісі, NA вирустың клетка бетімен қозғалуын жеңілдете отырып, сиал қышқылының “жалған” рецепторлармен байланысты вириондардың босап шығуына ықпал етіп, NA-ге ену рецепторлары экспрессиялайтын сиал қышқылына жол ашып, одан әрі эндоцитоз тиімділігін арттыруы мүмкін [35, 44].



Сурет 3 – ҚТВ А типінің NA және NA гендеріне негізделген филогенетикалық дарақ. (А) NA молекуласын екі топқа жіктеледі: 1-топ және 2-топ. Жарқанаттардан бөлініп алынған H17 және H18 (жұлдызшамен белгіленген). NA да 2 топқа бөлінеді. Жарқанаттардан бөлініп алынған N10 және N11 (жұлдызшамен белгіленген) екі топтың ешқайсысына жатпайды. Олар NA гомологы немесе молекуласы NA-типтес деп аталып, 3-топ деп жіктелінеді [50]

Сиал қышқылын байланыстыруға қатысты антагонисті белсенділік НА мен НА қызметінің арасындағы тығыз байланысты болжайды. Вирустық НА жабысуы мен зақымдаудағы қызметі жақсы зерттелінген, бірақ НА зерттеу негізінен оның вирус ұрпағының зақымдалған клеткалардан шығуындағы қызметіне шоғырланған [35].

НА сиалданған белоктары бар қабылдағыш клеткалармен (вирустық рецепторлар ретінде) байланысуына жауап береді, ол акырында клеткалармен бірігуіне және олардың ішіне енуіне әкеп соғады. НА сиалидаза болып табылады, ол жетілген вирусты зақымдалған клеткалардан шығуына мүмкіндік береді [46]. Қазіргі күні НА 16 типтармағы және НА 9 типтармағы көптеген алуан-түрлі үйлесіммен кездесетіндігі анықталған, ал екі қосымша типтармағы (H17N10 мен H18N11) тек жарқанаттардан бөлініп алынған (сурет 3 А және В), және вирустарды атау үшін әр түрлі топталған комбинацияларды пайдаланады, мысалы, кең таралған мерзімдік тұмау вирустары H1N1, H2N2, H3N2 және адамның кездейсоқ инфекциясы H5N1 мен жақында тіркелген H7N9 [48-50]. Өткен жылы сүңгуір үйректен бөлініп алынған H19 типтармағы (A/Common Rochard/Kazakhstan/Kz52/2008) табылғандығы жарияланды (сурет 3 А) [51].

Амин қышқылдық деңгейде НА типтармағының арасындағы айырмашылық шамамен 20% құрайды, бірақ одан да алыс типтері арасында бұл алшақтық 63% дейін жетеді. Амин қышқылдық тізбектің шамамен 25% НА барлық 16 типінде консервативті болып табылады [52]. НА типтармақтарына келетін болсақ, амин қышқылдық тізбектің түрленуі 31-61% аралығында ауытқиды.

Соңғы жылдары үй және жабайы құстар арасында жоғары зардапты құс тұмауы ошағы санының күрт өсуі орын алды. ҚТВ бірнеше типтармағы, атап айтқанда H5, H7 және H9, түр аралық барьерден өтіп, сүтқоректілерді, сонымен қатар адамға жұғып, өлімге душар қылды [53-55].

Вирустың вируленттілік ерекшелігінің негізінде оларды екі топқа бөлуге болады [56, 57]:

- төменгі зардапты құс тұмауы (ТЗҚТ) құстарда ауру белгілерін тудырмайды немесе ол жеңіл формада көрінеді (мысалы, қауырсынның үрпиюі мен жұмыртқалаудың азаюы). Үй құстарының жұққан кейбір төменгі зардапты вирустар жоғары зардапты құс тұмауы вирусына мутациялануы мүмкін;

- жоғары зардапты құс тұмауы (ЖЗҚТ) жұққан құста ауру ауыр формада өтеді және көп жағдайда өлімге душар қылады. ҚТВ кейбіреулері, H5 пен H7 ғана ЖЗҚТ деп жіктеледі, ал құстар арасында тараған H5 пен H7 типтармағының көпшілігі ТЗҚТ болып табылады [58]. ЖЗҚТ вирусының инфекциясы құстың бірнеше ішкі ағзаларын зақымдап, 48 сағат ішінде олардың 90%-нан 100%-ға дейінгі өлімін тудырады. Бірақ үйректерге вирус аурудың қандай да бір белгісі байқалмастан жұғуы да анықталған. ЖЗҚТ үй құстарынан жабайы құстарға да жұғып, оның әрі қарай географиялық таралуына әкеп соғуы әбден мүмкін [59, 60].

Аурудың клиникалық белгілері әртүрлі және көптеген факторларға байланысты: иесінің түрі, вирус штамы, жасы, жынысы, бірлескен инфекциялар, жүре пайда болған иммунитет және қоршаған орта факторлары.

Көбінде жабайы құстардағы төмен зардапты құс тұмауы вирусынан туындаған инфекциялардың көпшілігі клиникалық белгілері көрінбей, асимптоматикалық болып өтеді. Төмен зардапты құс тұмауы вирустарының аурушандығы жоғары ($>50\%$) және жаппай қырылу көрсеткіші төмен ($<5\%$), бірақ егер басқада қоздырғыштармен бірге жүрсе немесе ауру жас құстарда болса, өлім-жітім айтарлықтай жоғары болуы мүмкін.



Сурет 4 – Вирус жұқтырған үй тауықтарының клиникалық көрінісі [61]

Ескерту: а – конъюнктивит және бастың ісінуі, б – депрессиялық жағдай, мойын аймағындағы ісіну, в, г – табан цианозы.



Сурет 5 - Вирус жұқтырған үй үйректерінің клиникалық көрінісі [61]

Ескерту: а – табан мен тұмсығының цианозы, б – мойындарын 180°C бұрып шалқаяды немесе бүгіп алады

Жоғары зардапты құс тұмауының классикалық белгісі - топтағы құстардың көпшілігінің кенеттен өлуі. Құстардың 80-100% ауырады, жаппай қырылуы 10-100% құрайды.

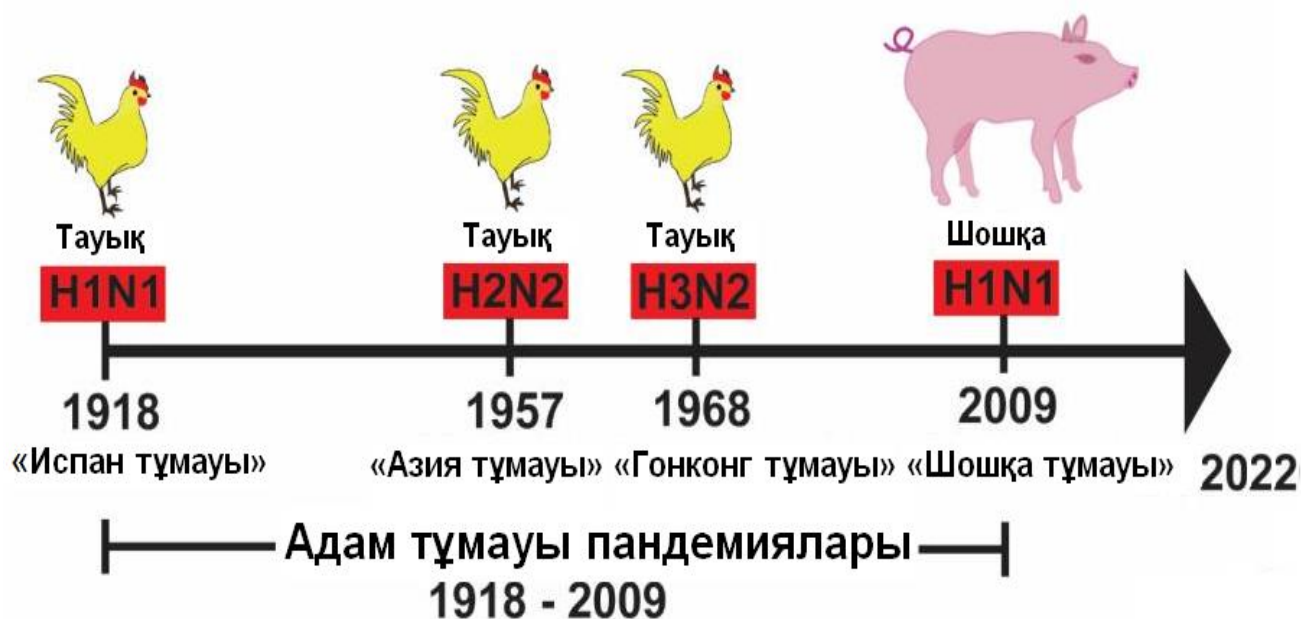
Инфекциядан кейінгі алғашқы күні, әдетте, летаргия байқалады, құстар тамақтан бас тартады. Екі тәуліктен кейін депрессия, қауырсын жүндерінің үрпиюі, тәбеттің төмендеуі, сыртқы тітіркендіргіштерге реакцияның болмауы, тыныс алудың қиындауы, ысқырықты сырылдар, тұмсығынан сілекей ағуы, диарея (жасыл түсті нәжіс) байқалады. Содан кейін белсенділіктің күрт төмендеуі, мойын жақта тері асты жасушасының ісінуі, аяқтарының терілері түсіп, табанның ісінуі байқалады, жотаның цианозы, терінің қауырсынсыз бөлігінің айқын цианозы дамиды (сурет 4 және 5 а), кейін құстардың өліміне әкеледі. Кейбір құстарда қозғалу координациясының бұзылуы, сал болу, атаксия, жүйке жүйесінің зақымдалуына тән мойынның қисаюы тіркеледі (сурет 4 б) [61]. ҚТВ үй құстарының жаппай қырылуына себеп болғанымен, жабайы құстар арасында бұл ауру симптомсыз өтеді және жаппай қырылу орын алмайды.

1.2 Тұмаудың А типті жоғары зардапты вирусының таралу тарихы

Құстардың жабайы түрлері, әсіресе суда жүзетін құстар А типті тұмау қоздырғышының әр түрлі типтармақтық нұсқаларының резервуары болып табылады. Осы құс түрлерінің жылдың суық мезгілінде негізгі тіршілік ету ортасы Азияның Оңтүстік-Шығыс аумағы. Сондықтан осы ауданда тұрғындардың тығыздығы жоғары болуымен қатар, аумақ ауданының бірлігіне шаққандағы құстардың да жоғары тығыздығы орын алады. Бұндай ахуал жабайы құстар мен адамдар арасындағы тығыз байланысқа ықпал етеді. Соның нәтижесінде тұмау ауруы қоздырғышының жабайы құстардан адамға және керісінше, адамнан жабайы құсқа жұғуына қолайлы жағдай жасалынады. Бұндай эпизоотологиялық және эпидемиялық көрсеткіштер құстар мен адам ағзасында тараған вирустар популяциясының арасында рекомбинациялануына ықпал етеді. А типті тұмау қоздырғышының рекомбинацияланған нұсқалары болжау мүмкін емес биологиялық қасиетке ие болады, кейде олар құстарға да, адамға да қатысты жоғары зардаптылықты иеленеді.

Құстар мен адамдар үшін зардаптылығы жоғары реассортантты вирустардың пайда болу мысалдары ретінде XX ғасырдағы пандемиялық тұмау жағдайларын айтуға болады. Олар 1918, 1957, 1968 және 2009 жылғы пандемиялар [63]. Тарихтағы бірінші тұмау пандемиясы (испандық тұмау) 1918-1920 жылдары адамзат популяциясына зиян келтірді [64] және әлемде шамамен 500 млн. адам ауырып, олардың шамамен 50 миллион адамның өмірін алып кетті [65]. 1918 жылғы тұмау пандемиясы рекомбинация негізінде пайда болды, ол кезде адамның H1 вирусы ішкі белоктар генімен бірге құстың N1 нейраминидазасын иеленіп, қазіргі кезде «классикалық H1N1» деп атайтын вирусқа айналды [66] (сурет 6). Сол жүзжылдықтың ортасында, 1957-1959 жылдары біріншіге ұқсас «Азиялық» деп аталынған тұмау пандемиясы тіркелді, ол жылдары екі млрд. адамға дейін ауырып, шамамен екі миллиондай адамның өмірін жалмады. Ауру қоздырғышы тұмаудың H2N2 типтармағы болды. Үшінші кең ауқымды тұмау пандемиясы 1968-1970 жылдары тіркеліп, адамзат

тарихында «Гонконгтық» деген атпен қалды. Бұл пандемия уақытында шамамен бір млрд. адам ауырып, екі млн. шамалас адамды өлімге душар етті [67, 68]. Ауру қоздырғышы А типті тұмау вирусының H3N2 типтармағы болды. Ең соңғы тұмау пандемиясы (шошқа тұмауы) 2009 жылы наурыз бен мамыр аралығында Мексикада шошқаларда пайда болып, әлемде шамамен 575 мың адамның өмірін қиды. Шошқа тұмауы «A(H1N1)pdm09» атына ие болған, пандемикалық H1N1 реассортантты вирустың арқасында туындады [69]. Барлық пандемиялардың қоздырғыштарының генетикалық материалын талдау нәтижесінде олар реассортанттар екендігін көрсетті және генотипінде адамның да, құстардың да тұмау вирусы генотиптерінің кесінділерінің болғандығы дәлелденді [70].



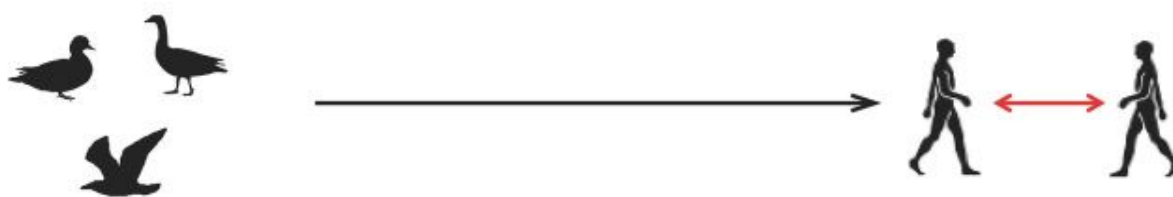
Сурет 6 – 1918 жыл мен 2022 жылғы наурыз мерзімі аралығындағы адам тұмауының төрт пандемиясы ұсынылған хронология. «Испандық» деген атпен танылған бірінші тұмау пандемиясы тауықтарда 1918 жылы пайда болды.

Екінші тұмау пандемиясы (Азия тұмауы) мен үшінші тұмау пандемиясы (Гонконг тұмауы) тауықтарда, сәйкесінше, 1957 және 1968 жылдары тіркелді.

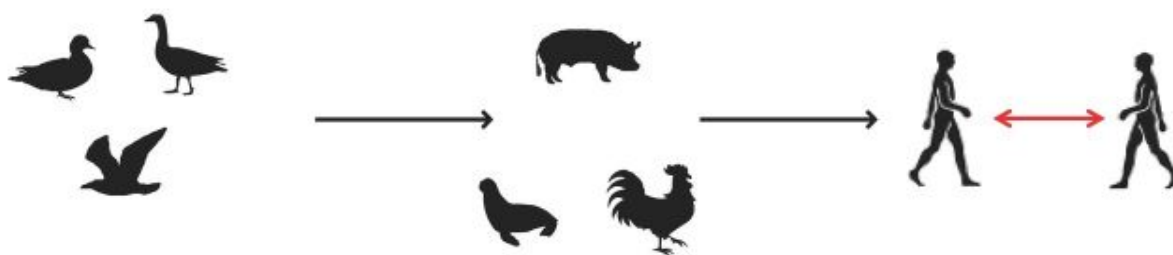
«Шошқа тұмауы» деген атпен белгілі, тұмаудың ең соңғы пандемиясы 2009 жылдың наурызы мен мамыр айы аралығында Мексикада шошқалар арасында пайда болды [62].

Көптеген жағдайларда тұмау вирусының алғашқы көзінен адамнан адамға және ауа-тамшылы жұғуы үшін әрі қарай бейімделуі әр түрлі жолмен жүруі мүмкін. Бірінші жағдайда суда жүзетін құстардан адамға тікелей жұғуы мен одан әрі адамға бейімделуі, екіншісі суда жүзетін құстардан аралық қожайынға жұғуы және осы қожайынға бейімделіп, одан әрі адамға жұғуы. Соңғысы әр түрлі жануарлар түрінен адамға жұғатын тұмау вирусының аралық қожайынына рекомбинациялануы (сурет 7) [73].

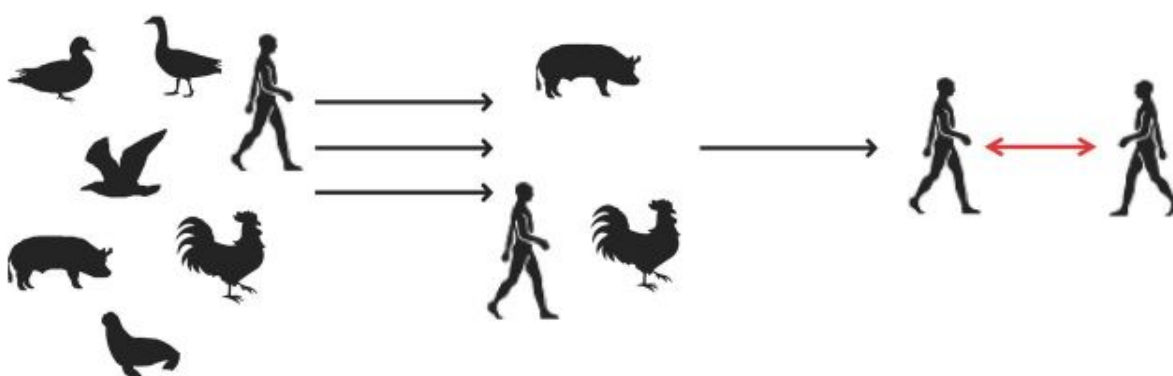
Тура жұғу және бейімделу



Аралық қожайын арқылы жұғу және бейімделу



Қайта топтастыру



Сурет 7 – Тұмау вирусының ықтимал жұғу жолдары және бейімделуі

ҚТВ жабайы суда жүзетін құстардан адамға тікелей зоонозды жұғуы жайлы хабарламалар, болжаммен адамның жабайы құстар нәжістерімен байланысы шектелгендіктен сирек жасалынды. Жабайы құстармен тығыз байланыс зоонозды жағдайлармен байланысты болған бірнеше оқиғаны ескермегенде, мысалы, аңшылық кезінде немесе [74] шошқа мен үй құстары сияқты адамдар жиі байланысатын аралық түрлер арқылы зоонозды тұмау вирусын жұқтыруы жиі кездескен. Адамдардың зоонозды вирустарды жұқтырған жағдайлардың басым көпшілігі адамдар арасындағы тұрақты жұғу белгілерінсіз, кездейсоқ орын алған. Жұғу адам жануармен тығыз байланыста болған уақытта тіркелген, мысалы, тірі жануарлар базары немесе жәрмеңкелерін аралағанда, жануарларды баптау кезінде, етті өндегенде, ауру жұқтырған жануарларды жойғанда немесе ауру жануарды сойып көру кезінде [75].

1.3 Жоғары зардапты құс тұмауы бойынша әлемдегі эпизоотологиялық жағдай

ЖЗҚТ H5N1 Азияда алғаш рет 1996 жылы тіркелді [53] және кейін Еуропа, Таяу Шығыс пен Африкаға таралып, көптеген адам өлімі мен жылдам даму үстіндегі азиялық құс шаруашылығы саласына ірі экономикалық шығын келтірді. ЖЗҚТ H5N1 вирусының құстардан адамға және адамнан адамға жұғу қабілеті төмен болғандығына қарамастан, эпидемия басталғаннан кейін адамдар арасында тіркелген жоғары өлім-жітім мен H5N1 вирусы құстардың миграциялық жолдары арқылы пандемияға айналуы айтарлықтай қорқыныш тудырды [76]. Цинхайлық H5N1 линия, атап айтқанда, Цинхайдан Еуразияға және Үнді субконтинентіне, сонымен қатар солтүстік және орталық Африкаға миграциялық жолдарды бойлай таралды. Сондай-ақ кейбір құс түрлері клиникалық білгілері көрінгенге дейін немесе оларсыз-ақ вирусты бөлетіндігі тәжірибе жүзінде көрсетілді [77]. Бұл H5N1 вирусының ірі масштабта жыл құстарымен берілуі байқалмау қалуы мүмкіндігін көрсетеді. Gaidet et al. хабарлауынша, ауру жұқтырған бір ақ реңді ысқыратын үйрек (*Dendrocygna viduata*) ЖЗҚТ H5N2 инфекциясынан тірі қалып, 47 күн бойы жерсеріктік таратқыш көмегімен қадағалау кезінде 655 км кем емес қашықтыққа көшіп ұша алды [78]. Басқа зерттеулер ЖЗҚТ H5N1 географиялық таралу бағыты құстардың негізгі миграция жолдарына сай келетіндігін көрсетті [79, 80]. Бірқатар зерттеулер, ұзақ қашықтыққа құстардың көшіп-қонуы құстарда иммуносупрессияға әкеп соғуы мүмкін, ал вирустық инфекциялар миграциялық белсенділікке кері әсерін тигізетіндігін көрсетті. Бірақ айта кететін жайт, ЖЗҚТ H5N1 тірі және дені сау жабайы құстарда сирек тіркеледі.

1996–1997 жж. Гонконгтағы ЖЗҚТ 2006 жылы қазан айының басында 53 елде үй және жабайы құстары арасында таралуын туындатып, 256 адамға жұғып, олардың 151 өлімге душар қылды [81]. Вирустың таралуын тоқтату үшін миллиондаған тауықтар, үйректер, түйетауықтар мен қаздар өлді және жойылды. Құс тұмауы ауруы тіркелген елдердің құс етін экспорттауға тиым салуымен бірге экономикалық шығын 10 млрд доллардан астам сумманы құрады. H5N1 түбегейлі жоюға күш салынуына қарамастан ол Оңтүстік-Шығыс Азиядан Орталық Азия, Еуропа мен Африкаға тарады. Интродукция жолдары жыл құстары, үй құстары мен оның өнімдерін тасымалдау, сонымен қатар жабайы құстарды сату деп болжанды. Бірақ H5N1 интродукциясына жекелеген жағдайлардың әсерімен болашақтағы таралуы жеткіліксіз зерттелген және кең талқылану тудыруда [79].

H5N1 таралу жолдарын анықтау осы вирустың болашақта таралуын болжау мен алдын-алуда шешуші мәнге ие [82]. Миграциялық құстардың орын ауыстыруы нәтижесінде ҚТВ елде таралу қаупі жоғарырақ болса, онда миграция жолындағы құстар тоқтайтын орындарды бақылау интродукциясының бірінші дәделдерін береді. Бұл жағдайда интродукцияның ең жоғарғы қаупі құстардың ең көп орын-ауыстыру мерзімі мен миграция жолдарына сай келетін болады [83]. ҚТВ өршуін болдырмау үшін фермада өсірілетін құстар мен миграция құстарының арасындағы байланысты болдырмау қажет. 2005-2006 жж. бірнеше Еуропа елдерінде осы әдіс қолға алғанып, ҚТВ таралуын болдырмауға ықпал

етеді. Тағы мысал ретінде, егер құстар мен құс өнімдерінің сауда-саттығы арқылы ҚТВ таралу қатері жоғары болса, онда вирустың елге ену ықтималдылығын төмендету үшін импортты құстардың мониторингі мен қауіп-қатер жоғары елдерден импортты тоқтатуды алға қою қажет. Ақырында, ҚТВ жабайы құстардың коммерциялық саудасы шеңберінде Еуропа мен басқа елдерге әкелінген жабайы құстардан табылған болса [84], барлық импортталынған құстарды карантинге қойылмаған, құс тұмауына тексерілмеген және қажеттілігінше жойылмаған жағдайда ғана, вирус таралуының осы жолы да ықтималдылығы жоғары.

Азия елдеріне келер болсақ H5N1 құс тұмауының вирусы 2003-2005 жылдар аралығында Корея, Вьетнам, Камбоджа, Жапония және Таиландта жаппай таралуы нәтижесінде миллионнан астам құс жойылды. 2013 жылдың сәуірінде Қытайда H7N9 штамының жаппай таралуы басталды. Бұл вируспен 453 адамның ауру жағдайы тіркелді. Тұмаудан 175 адам көз жұмды [85, 86].

2020 жылдың мамыр айында Ирак Республикасында, 2020 жылдың шілде мен тамыз айында Ресейде, 2020 жылы қыркүйекте Қазақстанда және 2020 жылдың басында үй құстарынан H5N8 вирусының таралуы анықтағанға дейін 2020 жылдың басында Еуропаның құс шаруашылығы саласында H5N8 кіші-гірім таралу ошақтары тіркелген болатын.

2020 жылдың мамыр айында Ирак Республикасы H5N8 вирусы үй құстарында таралғанын хабарлады, бұл елде ауру ошақтары бір жылдан астам тіркелмеген болатын. 2020 жылдың шілде айының аяғындағы Ирактағы ауру тұтануынан кейін Ресейдің оңтүстік-орталық бөлігіндегі Челябинск облысында H5N8 вирусының таралу жағдайы тіркелген болатын, және ол үй тауықтарын, қаздар мен үйректерді қамтыды. Үй құстарының жабайы құстармен байланысуы ауру таралуының ең мүмкін жолы болып көрсетілді [87]. Тамыздан қыркүйек айына дейінгі аралықта Тюмень, Омск және Курганда барлығы 11 жағдай сипатталды.

Ресейде H5 анықталуымен қатар Қазақстанның солтүстік-орталық аумағында, Қостанай, Ақмола мен Павлодар облыстарын қосқанда, үй құс шаруашылығында құс тұмауының таралу жағдайлары тіркелді [88].

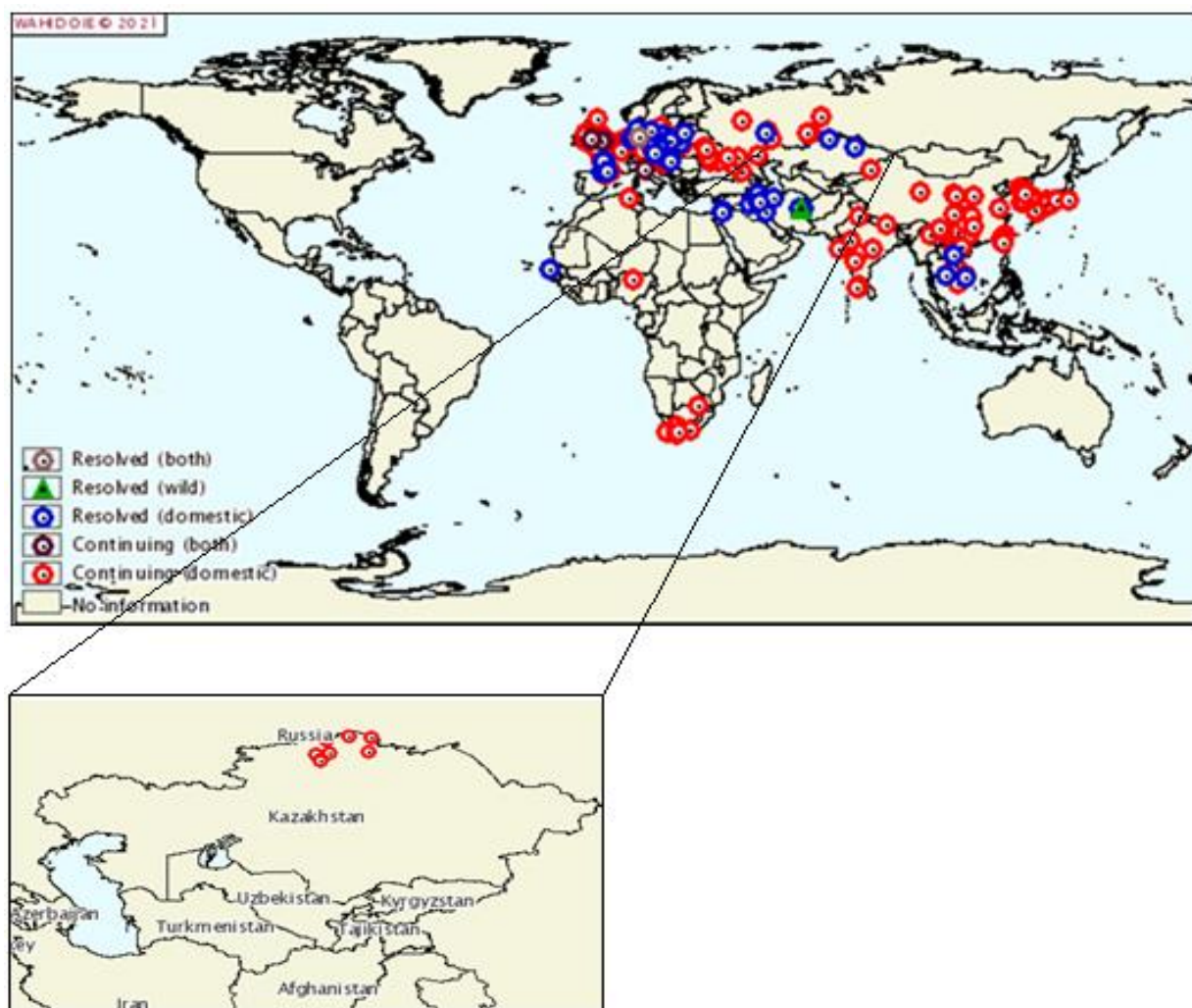
1.4 Елімізде тұмаудың А типі бойынша эпизоотологиялық жағдай

Қазіргі күні тұмаудың А вирусының зардапты штамдары бірнеше қауіпті пандемияға ұшыратты және жаппай қырылу көрсеткіші жоғары болды. Вирустық ауруларды жұқтырған құстардың өнімділігінің едәуір төмендеуі мен қырылуына әкеп соғатын орны толмас патология тудырады. Құс тұмауы вирусынан құстарды қорғаудың жалғыз жолы - құстардың жабық сыртқы ортадан оқшауланған жағдайда ұстау және вакцина көмегімен қоздырғышқа қарсы құстың иммунитетін қалыптастыру. Бірақ, жоғарыда айтылған вирустық аурулар қоздырғыштарынан қорғанудың көрсетілген мүмкіндіктерінің барына қарамастан, әлемнің көптеген елдерінде, соның ішінде Қазақстан Республикасында да құстар арасындағы эпизоотикалық жағдай шиеленіскен күйде қалуда.

Вирустық аурулар құс ағзасында түзелмейтін патология тудырады, ол өнімділігінің біршама төмендеуіне және ауру құстардың өліміне әкеп соғады [89]. Бұл ауруды тудыратын қоздырғыштардан арнайы емдеу терапиясы мен ағзаның тиімді санациясы ветеринария практикасында жоқ. Құстарды жоғарыда айтылған аурулардан қорғаудың жалғыз әдісі олардың қоздырғыштарының қабылдағыш құс ағзасына енуін болдырмау болып табылады, оны құстарды сыртқы ортадан оқшауланған жабық жағдайда ұстау мен құстарда вакцина көмегімен қоздырғышқа қарсы иммунитет (қарсы тұра алушылық) жасау жолымен орындауға болады. Бірақ атап өткен вирустық ауру қоздырғышынан қорғанудың көрсетілген мүмкіндіктері барына қарамастан, құстар арасындағы эпизоотиялық жағдай әлемнің көптеген елдерінде, сонымен қатар Қазақстан Республикасында да шиеленіскен күйде қалуда, және оқтын-оқтын инфекциялық вирустық аурулардың тарауы орын алуда [90]. Қолайсыз эпизоотиялық жағдайдың пайда болуына жемнің ауру қоздырғыштарымен ластануы, үй құстарының түрлерінің қоздырғышты тасымалдаушы болып табылатын синантропты құс түрлерімен байланысуына ықпал етеді. Құс өсіретін орындарға қоздырғышты тасудың басқа да механикалық жолдары, сонымен қатар вакцинада құратын иммунитеттің болмауы немесе жеткіліксіз кернелген иммунитет әсері бар [91, 92].

Өкінішке орай еліміз - Қазақстанды да бұл аурудан қауіпсіз деп айта алмаймыз. Құс тұмауы ауруы жабайы құстар арасында ҚР 2005 - 2017 жылдар аралығында Маңғыстау, Атырау мен Павлодар облыстарында тіркелді. ДЖДҰ Жер бетіндегі жануарлардың санитарлық кодексінің талаптарына сәйкес қолайсыз аймақтардан құстар мен құс шаруашылығы өнімдерін шет елген экспорттауға мүмкіндік бермейді. Жануарлар мен жануар шаруашылығы өнімдерін экспорттау мүмкіндігіне ел аумағы немесе аймақты ДЖДҰ құс аурулары жоқ деп мойындаған соң ғана ие болады.

Қазақстан Республикасында құстарда ЖЗҚТ індеті 2005 жылдың 22 шілдесінде Павлодар облысының Голубовка ауылында орналасқан Нан құс фабрикасында тіркелді. Зертханалық зерттеу Павлодар облысында өлген құстар арасында ЖЗҚТ H5N1 вирусының жұққандығы растады [93]. Кейін ауру Солтүстік Қазақстан, Ақмола мен Қарағанды облыстарының жеті аймағында тіркелді [94]. Вирустың антигендік құрылымы Ресей Федерациясының Новосибирск облысы мен Қытайдағы оқшауланған вируспен бірдей болды. 2006 жылы Маңғыстау облысының Ақтау, Жаңа-Өзен, Түпқараған және Қаракия аудандарында H5N1 ҚТВ өлген 80 жабайы құс табылды. Бұл штамдар генетикалық жағынан Цингай көлінен (Қытай) құстардан оқшауланған вирус штамдарына және Нигерия, Ангола және Ресейдегі құстардан табылған оқшауланған вирус штамдарына ұқсас болды [95]. 2015 жылы Атырау облысындағы мемлекеттік табиғи парк аумағында табылған бірқазанның екі өлексесінен құс тұмауының H5 типтармағы табылды [96].



Сурет 8 – 2020 жылы әлемде және осы жыл қыркүйекте Қазақстандағы ҚТВ тіркелген аудандар. Құстардан ҚТВ табылған аудандар қызылмен белгіленген

2020 жылдың тамыз айының соңында Ресейдің оңтүстік-орталық бөлігінен жабайы суда жүзетін құстардан ЖЗҚТ H5N8 тіркелді. Бір айдан соң Солтүстік Қазақстан облысының (СҚО) жеті ауданында (Тимирязев, Тайыншы, Жамбыл, Қызылжар, Шал ақын, Ғабит Мүсірепов атындағы, Мағжан Жұмабаев атындағы) 11 ЖЗҚТ ошақтары туралы хабарлама келді, содан кейін Петропавл, Қостанай, Ақмола және Павлодар облыстарынан да құстардың жаппай өлімін тудырған ҚТВ анықталды (сурет 8). Еліміздің солтүстік аймағында құс тұмауының өршуіне Ресейде тіркелген H5N8 вирусы себеп болды деген болжам айтылды [88]. H5N8 адамға қауіптілігі өте төмен болғанымен, жабайы және үй құстарына өте қауіпті болды. Осы жылы ауру ошақтары дүние жүзінің ондаған елдерінде тіркеліп, құс шаруашылығына қыруар шығын әкелді. Әлемде, соның ішінде Қазақстанның солтүстік аумағында тіркелген құс тұмауы ошақтары 5-суретте көрсетілген. Суретте байқалғандай, ҚТВ тіркелген СҚО аудандары қызылмен белгіленген және олардың барлығы Ресеймен іргелес жатқан аудардар.

Ауру қоздырғышын генетикалық талдау арқылы зерттеу нәтижесінде вирустың, 2020 жылдың мамыр айында Иракта болған құс тұмауының

вирусымен қатты ұқсас екендігі анықталды. Аурудың бұлай таралуының негізгі себептерінің бірі – жабайы құстар болып табылады [88, 97].

Егер жабайы құстар құстар арасында құс тұмауы таралуының негізгі агенті ретінде орын алатын болса, онда аурудың сипаты жабайы құстардың таралуы мен орын ауыстыруына қатты байланысты болады деп күтіледі. Жабайы құстардың таралуы мен орын ауыстыруы климат, топография, тамақтану орны мен су-батпақты жер сияқты табиғи ресурстардың болуына байланысты [98].

Ғылыми қоғамдастық ЖЗҚТ вирусының бірінші кезекте құс ауруын тудыратынын және қадағалау мен аурудың алдын-алу және күресу шаралары бірінші кезекте ауыл шаруашылығы деңгейінде мал шаруашылығы мен биотехнологиясын жақсарту үшін қабылдануы керек деп санайды. Бұл вирустың адамға жұғуын болдырмауға себеп болады және аурудың құстар арасында одан әрі таралуына жол бермейді. Алайда жабайы құстардың аурудың таратуы мен таралуындағы рөлін зерттеу мәселесін ескермеуге болмайды.

1.5 Құстардың көші-қон жолының ауру таралуына әсері

Қоныс аударатын құстар әр түрлі зоонозды агенттердің географиялық таралуында маңызды рөл атқарады. Осы агенттердің ішінде ҚТВ құстардың маусымдық көшіп-қонуы кезінде үлкен қашықтықтарға таралатындығы көрсетілді [99]. Жабайы, әсіресе суда жүзетін құстар ҚТВ негізгі резервуары-қожайыны болып табылады және үй жануарлары мен адамдар арасында пандемикалық құбылыстардың туындауына себепкер болады. Жабайы суда жүзетін құстар көшу кезінде алыс қашықтыққа ұшады. Бұл ұшу құстарға ҚТВ жұқтыруға да, таратуға да мүмкіндік береді. Сондықтан да, ҚТВ құрлық ішінде және құрлық аралық таралуын түсіну, тұмау ошағын бақылаудың сәтті стратегиясын жасап шығару мен олардың зардабын төмендетуде шешуші рөл атқарады. Қазақстанда көптеген құс түрлері солтүстіктен оңтүстікке бойлай мерзімдік миграциялық қозғалыстар жасайды, ол вирустың үлкен аумаққа таралуына мүмкіндік береді. Бірақ құстардың осындай ұшу жолдарының ҚТВ популяциясының генетикалық құрылымының түзілуінде қандай қызмет атқаратындығы анықталмай отыр [100].

Өкінішке орай, Қазақстанда құстардың қоныс аудару сипаты жайлы мәселе айтарлықтай егжей-тегжейлі тәжірибелік зерттеуге жасалмаған. Құстардың орын ауыстыруы жайлы қолда бар талдаулар көпшілігі көзбен бақылау негізінде жасалынғандығын дәлелдейді. Қазақстанның ұлан ғайыр аумағы мен бақылаудың аздығын ескергенде, ол бақылаулар құстардың миграциясы мен олардың ұя салуына қатысты мәселелерге толыққанды жауап бере алмайды [10]. Сондықтан да болашақта біздің осы мәселе төңірегінде терең зерттеулер жасап, ҚТВ таралу динамикасына мониторинг жүргізе отырып, оны болдырмау жолдарын қарастыруды қолға алу ойымызда бар.

Жарияланған зерттеулерге сүйенсек, ҚТВ әр түрлі құс түрлерінің арасында таралуы алуан-түрлі, сонымен қатар географиялық және уақыттық айырмашылықтар бар [101].

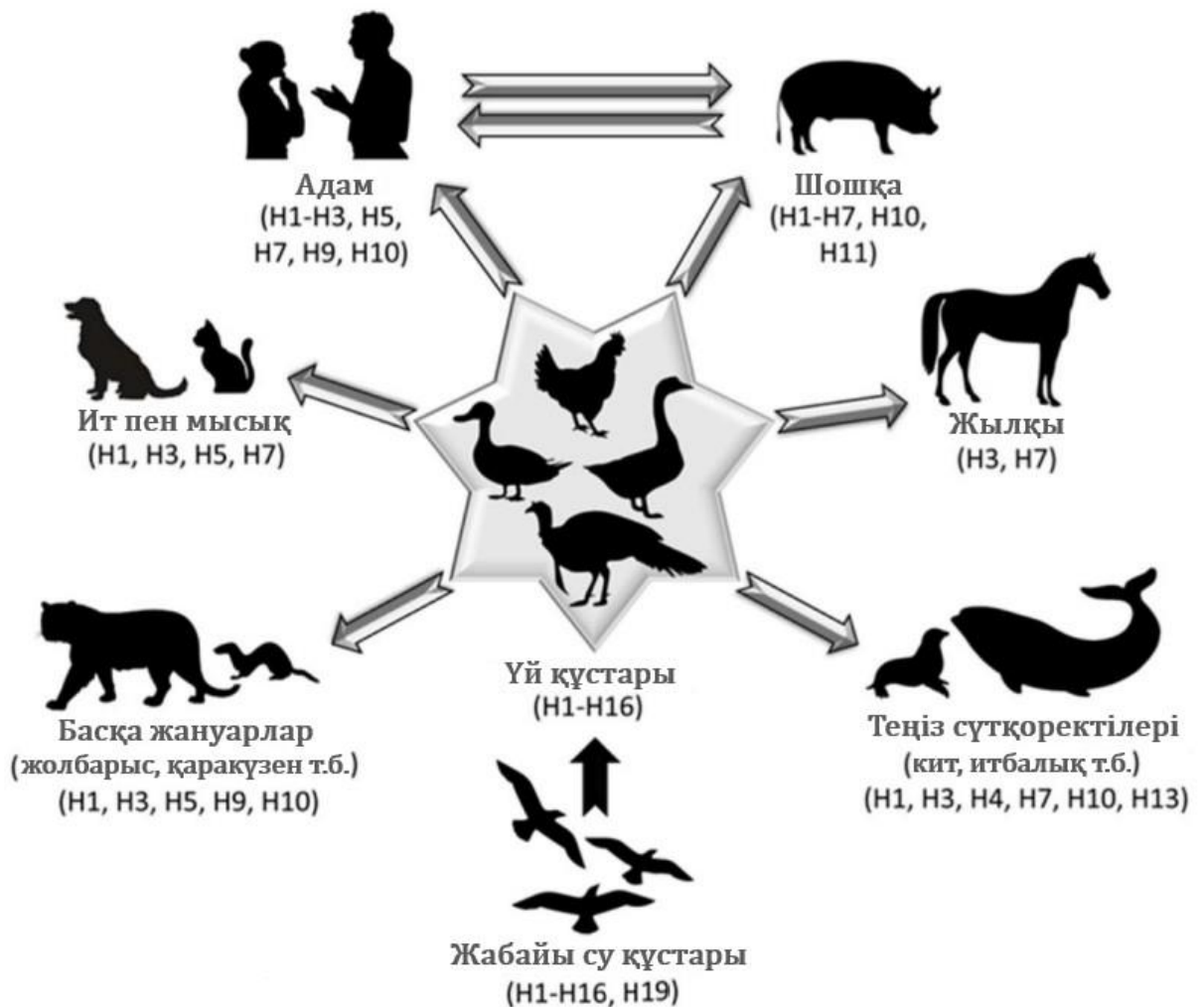
ҚТВ жиілігінің осылай ауытқуы құстардың қабылдағыштығы, климаттың әсері мен популяцияның динамикасын қосқанда жұғу динамикасының

гетерогенді сипатына, сонымен қатар құстардың аялдауы, тамақтануы мен көбею сияқты осы суда жүзетін құстардың экологиялық тәртібінің нәтижесі болуы мүмкін. Осылайша, суда жүзетін құстардың алыс қашықтыққа көшуі инфекцияның таралуында маңызды рөл атқарады, бірақ құс тұмауының жаһандық штамдарының көп түрлерге жұғу динамикасымен байланысын әлі де зерттеу керек [102].

Көптеген көшпелі құстар жыл сайын бір ұшу жолын пайдалану үрдісі бар. Бұл ұшу жолдарының салыстырмалы түрде тар географиялық ұшу облысы болуы мүмкін, бірақ түр ареалына қатысты кең аумақтарды алып жатуы да ықтимал. Екінші жағынан, құстарға сақина салғаннан кейін және басқа да зерттеулерден соң, жекелеген дарақтар жыл сайын бір ұшу жолы мен тоқтайтын орынды пайдаланатындығы белгілі болды. Бұл көптеген суда жүзетін және су маңында мекендейтін, сонымен қатар торғайлар жасағының майда құстарына да тиесілі [103].

Популяцияда таралған вирустың далалық мониторингін ең тиімді жүргізу үшін, қоршаған ортадағы вирус бөлшектерінің тұрақтылығы, жұғу механизмдері мен инфекциялық шамасы туралы сенімді білімге ие болуымыз керек. Тұмау вирионы екі қабатты липидті қабықпен жабылған рибонуклеин қышқылы болып табылады. Құстар арасындағы құс тұмауы жұғуының негізгі жолы – нәжіс және ауызбен [103, 104]. Вирус бөлшектерінің нәжістегі және қоршаған ортада бос түрдегі (көбіне судағы) тұрақтылығы вируленттілік тұрғысынан, сонымен қатар далалық зерттеулер тұрғысынан бірінші кезекті мәнге ие. Көшіп-қонатын құстар тұрақтайтын және демалатын уақытта биотоптарға тән қоршаған орта жағдайында вирустың ұзақ сақталғыштығы мен оның инфекциялық қабілетінің сақталуы негізгі алаңдауды тудырады. Өткен ғасырдағы ҚТВ бойынша үйрек нәжісіндегі классикалық зерттеу болжамы бойынша нәжіс материалындағы вирустар жұққыштығын температура 4°C ортада кем дегенде 30 күн және 20 °C-та 7 күн аралығында сақтайды [104].

Солтүстік Американың, атап айтқанда Аляска, Миннесота мен Луизиананың солтүстік сулы-батпақты алқабындағы зертханалық әдістермен үйлестірілген далалық зерттеулері вирустың табиғаттағы тіршілікке қабілеттілігін бағалауға мүмкіндік берді. ҚТВ бар үйректің клоака және тұмсық-жұтқыншақ жағындыларының қос сынамаларын судағы инокуляциялау үшін пайдаланылды, кейін олар бір уақытта зертхана жағдайында және батпақтанған аймақта сақталды (кейінгілерін тесілген шойын бөшкелерде сақталынды). Тәжірибе 200 күннен аспады және қыс мезгілін қоса жүргізді. Аляска мен Миннесотаның далалы аймағынан жиналған сынамаларда қалыпты температурада беттік суларда сақтау кезінде вириондар жұққыштығын жеті айдан астам уақытта сақтайтынын анықтады, дегенмен олар уақыт өте вирус белсенділігі сақтала отырып, сынама мөлшерінің баяу азаюын көрсеткен. Солтүстік сулы-батпақты алқапта төмен температура (0°C-қа жақын) мен бейтарап рН физикалық жағдайда ҚТВ жұққыштығын сақтаған [105]. Бұл нәтижелер сулы орта ҚТВ маңызды резервуары болып табылатындығын көрсетеді.



Сурет 9 – Әр түрлі сүтқоректі қожайындарына ҚТВ типтармақтарының таралу сызбасы. ҚТВ адам, шошқа, теңіз жануарлары, жолбарыс, қаракүзен, жылқы, үй иті мен мысығына жабайы су құстары арқылы тарап, суқоймаларда, сондай-ақ сүтқоректі қожайындарына жұғу үшін үй құстарында пайда болды деген болжам бар. Бір бағытты сызық ҚТВ зоонозды потенциалына, ал екі бағытты сызық зооноздан кейін «адамнан жануарға» ықтимал кері зооноз құбылысына жатады [106]

Вирус көп жағдайда қоныс аударатын жабайы су құстары, әсіресе үйректер мен қаздардан және су маңы құстарынан тарайды (сурет 9). Әдетте, ауру симптомы жоқ құстар вирусты ауданнан ауданға тасиды және оны нәжісімен бөліп шығарады. Үй құстары, әсіресе түйетауықтар, ЖЗҚТ жылдам жұқтырады және жаппай қырылады. Құс тұмауы негізінен ауру жұқтырған құс пен сау құс арасында тікелей байланыс орнаған кезде таралады. Ол құс қондырғылар немесе материалдармен (су мен жемді қосқанда) байланысқан кезде, ауру жұқтырған құстардың нәжісі немесе тұмсығы не аузынан бөлінген сілекей арқылы да берілуі мүмкін. Адамдар да вирусты киімі, аяқ киімі немесе көлігінің дөңгелегімен ауруды фермадан фермаға жанама таратуы мүмкін. Жабайы құстар әдетте вирусты өздері ауырмай таратуы ықтимал. Алайда, жабайы құстар тобы ауырған

немесе көшіп-қонатын құстар ұшу жолында жергілікті құс топтарына вирусты жұқтырған бірнеше сирек жағдайлар орын алған. Қазіргі уақытта бұл өзгеріс не себепті орын алғандығы зерттелу үстінде.

Осылайша, құс тұмауы - қоғамда денсаулық сақтаудың негізгі проблемасы болып табылады. ЖЗҚТ негізінен H5 және H7 типтармақтарымен шектелген, және осы вирустарды жұқтыру үй құстарының қабылдағыш түрлерінің 100% өліміне әкеліп соғады. ТЗҚТ көздің жасаурауы мен тұмсықтан су ағу және инфраорбиталды қуыстың ісігі сияқты респираторлы симптомдарды тудыруы мүмкін.

Республиканың географиялық орналасуы бойынша, Қазақстанның суқоймалары су мен су маңында мекендейтін құс түрлері үшін маңызды үлкен. ҚТВ ошағының еліміздің аумағында пайда болу мүмкіндігі осы ауру бойынша қолайсыз елдерден ұя салу орындарына қоныс аударатын құстардың қайтып келуімен көктемде артады. Республикада ұя салу, түлеу, маусымдық миграция мен қыстау мерзімінде құстардың 130 түрі тіркелген. Жыл сайын ұя салатын құстар саны 10 миллионға жетеді, түлеуге 2-3 миллион құс ұшып келеді, ал шамамен 50 миллион жыл құстары көктем мен күзгі миграция мезгілінде біздің суқоймаларға тоқтайды. Сонымен қатар миграция құстары республиканың барлық дерлік аумағынан ұшып өтеді және ұя салады. Құстардың ұшу жолдары мен олардың жаппай жинақталу орындары ерекше қауіп төндіреді.

Ұшу жолы терминін бір бағытты пайдаланатын құстарға да қолданылады. Ұшу жолы одан әрі әр түрлі құстар үшін қоныс аудару бағытын болжай алады. Мысалы, 10-суретте көрсетілген жолдардың бірі - Шығыс-Атлант ұшу жолын балшықшы құстар ғана пайдаланбайды. Бұл ұшу жолын кейбір қырқылдақтар, шағалалар және кей жыртқыш құстарды қосқанда, басқа да құстар пайдаланады.



Сурет 10 – Дүние жүзіндегі балшықшылардың ұшу жол картасы (дерек көзі International Wader Study Group)

Суретте көріп тұрғандарыңыздай, қоныс аударатын су-батпақ құстары Қазақстан аумағы бойынша Еуразиядағы үш ірі миграция жолдары арқылы өтеді, олар Сібір-Қаратеңіз-Жерорта теңізі, Батыс Азия-Шығыс Африкалық және Орталық Азия жолдар (10-сурет). Мүйіз тәріздестер, аққулар, қаздар, үйректер, қасқалдақтар, шағалалар, балшықшылар бірінші және екінші жолмен солтүстік-шығыстан оңтүстік-батысқа қыстау орындарына ұшып, Батыс және Орталық Сібірдің солтүстік аудандарында ұя салады. Үшінші жол шығыс Орал маңы, Батыс Сібір, сонымен қатар Қазақстанның аумағына таяу Монғолия мен Қытай аудандарында, және де Қазақстан аумағының өзінде, әсіресе оның шығыс бөлігін мекендейтін сұқсыртекестер (*Podicipediformes*), бірқазантекестер (*Pelecaniformes*), сирақтылар (*Ciconiiformes*), тақта тұсықтылар (*Anseriformes*), тырнатекестер (*Gruiformes*) және татреңтекестер (*Charadriiformes*) құстарының ұя салу және жазғы тұрағын байланыстырады. Бірақ бұл жолдардың арасында анық шекара жоқ. Керісінше, Павлодар, СҚО, Ақмола мен Қостанай облыстары аумағында бұл миграция жолдары біршама қиылысады. Осы себептен миграция мерзімі, әсіресе күздік сұқсыртекестер (*Podicipediformes*), тақта тұсықтылар (*Anseriformes*), тырнатекестер (*Gruiformes*) және татреңтекестер (*Charadriiformes*) популяциясын сақтау үшін маңызды мерзім болап табылады, олардың миллиондаға саны континенттің біршама бөлігінен осы жерлерге тоқтайды. Сақина салу әдісімен Қазақстанның суда жүзетін құстарының Ұлыбритания, Германия, Бельгия, Нидерландия, Италия, Грания, Марокка, Мысыр, Ирак, Иран, Пәкістан, Үндістан, Қытай мен Моңғолияның батыс аудандары, сонымен қатар Батыс, Орталық және Шығыс Сібірдің көптеген аудандарымен аумақтық байланыс орнатылды [5].

Қазақстанның солтүстік бөлігінде олардың ұя салатын және түлейтін орындары бар, олар: Қамыс-Самара көлдер жүйесі, Наурызым мен Теңіз-Қорғалжын көлдері, Қойбағар-Түнтұғыр көлдер тобы, Сары-Көп көлдер жүйесі, Ырғыз бен Торғай өзендерінің төменгі ағысындағы көлдер тобы. Оңтүстік аймақта көшіп-қону кезіндегі ең маңызды тоқтау орындары бар: Каспийдің солтүстік және солтүстік-шығыс жағалауы, Арал теңізінің солтүстік бөлігі – Кіші Арал, немесе – Балқаш қазандығы және Алакөл көлдер тобы.

Мониторинг жүргізілетін құс түрлерінің жағдайы жайлы нақты мәліметтер алу өзінің биологиялық шамасын – популяция санын оңтайлы деңгейде ұстап тұру, экожүйенің ең көп таралған түрлерінің үлкен ауданды алуын толық іске асыруға мүмкіндік беретін, әр түрге тән тіршілік ету орын қадағалау жүргізген жағдайда мүмкін болады [10].

Көптеген құс түрлері қыс мерзімінде Орталық Азия мен Еуропа елдерінен Пәкістанға тамақ іздеу немесе қатаң ауа-райы жағдайынан қашу мақсатында ұшып кетеді. Қоқиқаз, сұңқар, аққу, қаз, балшықшы, тырна мен үйректер Пәкістанның маңызды жыл құстары болып табылады. Негізінен құстардың миграциясы солтүстік арктикалық аудандардан оңтүстік жазық жағына қарай жүреді. Қыстағы негізінен тропикалық аудандарда өтеді, олар онда 6-7 ай тұрақтап, ал көбеюі климаты қоңыржай аудандарда өтеді, онда құстар 2-3 ай түршілік етеді. Миграция құстарының белгілі аудандарда мекендеуі бұл орын жайылуы, ұя салуы мен көбеюге қолайлылығын дәлелдейді. Әр түрлі зерттеулер,

құстардың миграциясы тамақтың болуы, маусымдық өзгерістер мен жыртыштардың шабуыл жасау қаупіне қарай әр түрлі аудандарда өтетіндігін көрсетті [84].

1.6 Құс тұмауы вирусынан төнетін қауіп пен онымен күресу шаралары

Қазақстанның құстардың көшіп-қону жолдарында тіршілік ететін жабайы және үй құстарының арасындағы тұмаудың А вирусының таралуының мониторингі вирустың өзгергіштігі мен эволюциясының дамуын анықтайтын процестерді зерттеу үшін маңызды [107].

Құс тұмауы ауруы мониторингінің көлемі мен әдістері, осы ауру бойынша аман-саулықты сақтау үшін жүргізілетін шаралар, сонымен қатар диагностика, алдын-алу, күресу ДЖДҰ, Жерүсті жануарлары кодексінде [108] жазылған талаптарды қанағаттандыруы қажет [109]. Осыған байланысты зерттеу міндеттерінде зерттелінетін аймақта құс тұмауы бойынша эпизотиялық жағдайды екі әдіс көмегімен анықтау жоспарланды. Біріншісі, серологиялық зерттеу әдісі, атап айтқанда, ИФТ, антигендерді оларға сәйкес келетін антиденелер көмегімен анықтау және осы ауруға қатысты қатерді айқындау. Екіншісі, Қазақстан Республикасының аумағы үшін эпизотиялық қауіп төндіретін ҚТВ анықтау (дифференциалды типін) анықтауға арналған молекула-генетикалық тест-жүйе, ҚТВ генетикалық линиясын анықтауға арналған молекула-генетикалық тест-жүйенің диагностикалық арнайылығы мен сезімталдылығын тексеру.

Вирустық аурулар оларды жұқтырған құстардың өнімділігінің едәуір төмендеуі мен өліміне әкеп соғатын орны толмас патология тудырады [108]. Осы аурулардың қоздырғышына қарсы арнайы емдеу құралдары мен тиімді жақсартулар ветеринария практикасында жоқ. Жоғарыда айтылған аурулардан құстарды қорғаудың жалғыз жолы – құстардың жабық сыртқы ортадан оқшауланған жағдайда ұстау және вакцина көмегімен қоздырғышқа қарсы құстың иммунитетін (қарсы тұра алушылығын) қалыптастыру арқылы ауру қабылдағыш құстың ағзасына олардың қоздырғышын ендіруді алдын-алу болып табылады. Бірақ, жоғарыда айтылған вирустық аурулар қоздырғыштарынан қорғанудың көрсетілген мүмкіндіктерінің барына қарамастан, әлемнің көптеген елдерінде, соның ішінде Қазақстан Республикасында да құстар арасындағы эпизоотикалық жағдай шиеленіскен күйде қалуда, және оқтын-оқтын инфекциялық вирустық аурулардың ошағы пайда болуда [105]. Қолайсыз эпизоотикалық жағдайдың туындауына жемнің ауру қоздырғыштарымен ластануы, үй құстарының ауру қоздырғышын тасушы болып табылатын синантропты құс түрлерімен байланысуы, сонымен қатар иммунитеттің болмауы немесе вакцина салынған соң түзілетін иммунитеттің жоқтығы ықпал етеді [103, 104].

2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ

Жұмыс «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» жауапкершілігі шектеулі серіктестігінің (ЖШС) вирустар экологиясы зертханасы мен «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринарлық институты» ЖШС вирусология зертханасында жүргізілді.

2.1 Материал жинақталған орындар жайлы қысқаша ақпарат

Қазақстан аумағы арқылы Сібір-Қаратеңіз-Жерорта теңізі, Батыс Азия-Шығыс Африкалық және Орталық Азия құс жолдарымен шамамен 50 млн жабайы құстар қоныс аударатын өтеді. Олардың басым көпшілігі Қазақстанның солтүстігінде орналасқан өзен-көлдер мен суқоймаларға тоқтайды.

ҚТВ бойынша мониторинг жүргізу үшін материалдар (тұмсық-жұтқыншақ жағындылары, қан сарысуы мен өлген құстардың ішкі ағзаларының кесінділері) Қазақстан Республикасының қоныс аударатын құстар жолында орналасқан 6 аумақтан – СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Ақмола, Батыс Қазақстан мен Алматы облыстары аумағында орналасқан жеке шаруашылықтардағы үй құстарынан 2020-2022 жыл аралығында жинақталды.

Биологиялық материалдар жабайы құстардың көктемді көшіп-қонуы кезінде жинақталуы мен ұя салуы уақытында үй құстарынан жиналды.

Сондай-ақ ҚТВ жаппай тараған уақытта, 2020 жылы СҚО мен Алматы облысында үй құстары аурынған уақытты және 2022 жылы Маңғыстау мен Атырау облысында су маңы құстары жаппай қырылған уақытта тұмсық-жұтқыншақ және клоака жағындылары мен патологиялық материал (ішкі ағзалары) жинақталды.

2.2 Материалдар мен әдістер

2.2.1 Зерттелінген биологиялық материалдар мен изоляттар

Зерттеу жұмысы эпизоотиялық тәсілдер кешенін, сонымен қатар құс тұмауын анықтаудың вирусологиялық және молекулалық әдістерін қолданып жүзеге асырылды.

Биологиялық материалдан сынамаларды жинақтау Қазақстан Республикасының Ауыл шаруашылық министрлігінің 2015 жылдың 30 сәуіріндегі № 7-1/393 бұйрығымен бекітілген Сынамаларды, орын ауыстыратын (тасымалданатын) нысандар мен биологиялық материалдарды жинақтау ережесіне сәйкес жүргізілді.

Жұмыста үй құстарының қан сарысуы, трахея және клоака жағындылары, ішкі органдардың кесінділері, сонымен қатар олардан бөлініп алынған РНҚ қолданылды.

Жұмыста ҚТВ эпизоотиялық таралуы мен мониторингі кезінде үй құстарынан 2020-2022 жылдар аралығында Алматы, СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Ақмола мен Батыс Қазақстан облыстарындағы шаруашылықтардағы және ҚТВ таралған аймақтағы құстардан жинақталды.

Зерттеу үшін осы аймақтарды таңдаудың негіздемесі ретінде әр аймақтағы құстардың саны жайлы мәліметтер, сонымен қатар географиялық сипаттамалар

болды: өзендер, көлдер, тоғандар, су-балшықты алқаптар болды. Мысалы, Орал өзенінің сағасы, Солтүстік және Шығыс Каспий, Теңіз-Қорғалжын көлдер жүйесі, Шоқпақ асуы, Қызылкөл көлі, Іле сағасы, Алакөл-Сасықкөл көлдер жүйесі, Солтүстік Қазақстанның Ресеймен шекаралас аймақтары құстардың көшіп-қону жолдарының түйінді орнитологиялық нүктелеріне жатады.

Сырдария мен Амудария бойынша жекелеген жерлер құстардың қыстау орындары. Барлық сулы-балшықты алқаптар ұя салу орындары да, қоныс аударатын суда жүзетін құстарының демалу орындары да болып табылады. Қазақстанның далалы және орманды-далалы аймақтары суда жүзетін құстардың жаппай түлеу орнына айналған. Қазақстанның солтүстік облыстары суда жүзетін құстардың көптеген саны кездесетін өте тығыз жүйені құрайтын алуан түрлі көлдерді көп аймақ болып табылады. Орталық Қазақстанда авиафаунаның түрлік құрамы мен алуан түрлі биоматериалды жинақтау тұрғысынан ең тиімді орын Қорғалжын мемлекеттік табиғи қорығы болып саналады.

2.2.2 Вирусологиялық зерттеу әдістері

2.2.2.1 Биологиялық материалды жинақтау мен дайындау

Эпизоотологиялық мониторинг үй құстарынан биологиялық және патологиялық материал сынамаларын жинақтау, сақтау мен тасымалдау, зертханалық зерттеулер жүргізу мен эпизоотологиялық мәліметтерді талдауды жоспарлау бойынша шаралардан тұрады. Мониторинг клиникалық, серологиялық, вирусологиялық және молекулалық-биологиялық зерттеулер жүргізуге негізделеді.

Қазақстан Республикасы аумағында үй құстарының мониторингінде сынама жинақталатын орындарды (нүктелерді) анықтау үй құстарының өндірістік бас санының тығыздығы, жабайы құстардың жаппай жинақталу аудандары, жабайы жыл құстарының қоныс аудару дәліздерін, эпизоотиялық ахуал, алдын-алушы егу аймақтары мен болжалды қатер факторларын ескере отырып жүргізіледі.

Эпизоотологиялық мониторинг жүргізу кезінде бақылау мақсатына арналған субъекттегі аймақтар санын анықтау бойынша кездейсоқ әдісті қолдану ұсынылады. Субъектте 200 дейін елді мекен болған жағдайда, жеке шаруашылықтардағы ауру басымдығы (преваленттілігі) 20% болатындығын ескере отырып, мониторинг жоспарына 13 елді мекенді қосу ұсынылады; аймақта 200 астам елді мекен болған жағдайда жоспарға олардың 14 қосылады. Серологиялық зерттеулер үшін 100 бастан аса құс өсірілетін бір елді мекеннен кем дегенде 25 құстан қан жинақталады. Сонымен қатар қан әр түрлі жеке шаруашылықтарда өсірілетін құстардан, кездейсоқ (бес ауладан кем емес) іріктеуді қолданып жинақталады [110].

2020-2022 жылдар аралығында үй құстарынан биологиялық материалды жинақтау кезінде жабайы құстардың көктемгі және күзгі көшіп-қонуы уақытында Алматы, СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Ақмола мен Батыс Қазақстан облыстарындағы жеке қожалықтарға экспедициялық іссапарлар орын алды [61].

2.2.2.2 Иммуноферменттік талдау

Құс тұмауы ауруы қоздырғышының антигенін анықтау үшін ИФТ ID Screen®, ID-VET H5 Antibody Competition, Франция фирмасының тест жүйесін қолданып, 450 нм толқын ұзындығында Microplate Reader («Thermo Fisher Scientific») риддерінде жүргізуді. Әр зерттелінген сынаманың оптикалық тығыздығының (ОТ) теріс бақылаудың орташа оптикалық тығыздық (ОТ_Б⁻) көрсеткішіне бөлгеннен кейінгі (С/Т) пайыздық мәні есептелінді:

$$C/T = OT_{\text{сынама}} / OT_{\text{Б}^-} \times 100$$

ҚТВ антиген анықталынған жағдайда, сынамаларды талдау нәтижесі:

- 35% аз немесе тең болса, иммундық статусы оң болып саналады;
- 36-39 % аралығында болса, талдау қайта жүргізіледі;
- 40% жоғары болса, иммундық статусы теріс болып саналады.

Қан сарысуы сынамаларынан ҚТВ қоздырғышы анықталған жағдайда сол үй құстарының клоака және трахея жағындыларынан РНҚ бөлініп, кері транскрипциялық полимеразалық тізбектік реакция (КТ-ПТР) жүргізілді.

2.2.2.3 Вирусты бөліп алу және клондау

Бөліп алу мен клондауды 10-11-күнде дамып жатқан үш құс эмбриондарының аллантоисты қуысына зерттелініп отырған материалдың әр сынамасын инокуляциялау және одан әрі оларды 48 сағ. аралығында 37°C температурада инкубациялау жолымен жүргізілді. Аллантоисты сұйықтықта вирустың болуын 0,75% құс эритроциттерінің суспензиясын пайдаланып ГБР микроәдісімен тексерілді. Әрі қарай пассаждау үшін вирус анықталған шекті сұйылту қолданылды. Вирустың зақымдаушы титрін L.Reed мен H.Muench [111] әдісі бойынша есептелінді және Ig эмбрионалды инфекциялаушы доза (ЭИД)₅₀/0,2 мл көрсетілді.

2.2.2.4 Гемагглютинация реакциясы мен гемагглютинацияның тежелу реакциясында диагностикалық сарысулар көмегімен вирусты анықтау

Аллантоисты сұйықтықта гемагглютиндеуші агентті (ГАА) анықтауды Гемагглютиндеуші агенттің тежелу реакциясы (ГАТР) *Influenza virus* туысының А типті тұмау вирусының диагностикалық сарысуларының жиынтығын пайдаланып жүргізілді.

А типті тұмау вирусының типтармақтық қатыстылығын анықтаудың басқа әдісі изоляттардың НА мен NA гендерінің нуклеотидтік тізбегін GenBank мәліметтер базасындағы белгілі типтармақтармен BLAST талдау болып табылады.

Реакцияны бір- және көпканалды жартылай автоматты пипеткалардың көмегімен бір реттік микротитрлеуші планшеттерде орындалды. Физиологиялық ерітіндідегі зерттелінген сарысуды одан әрі екі есе сұйылтуға вирустың төрт антигендік бірлігі енгізіп, қоспаны бөлме температурасында 40 минут аралығында инкубацияланды. 0,75%-дық құс эритроциттерінің суспензиясын қосқан кейін, олардың шөгуінен соң вирустың гемагглютинациясын тежейтін

сарысудың соңғы сұйылтуына сүйеніп денелердің титрі анықталды. Реакция антигендер, эритроциттер мен сыналатын сарысуларды бақылауға сүйеніп жүргізілді.

Құстардағы тұмаудың А типінің он бір типтармағына диагностикалық сарысу жиынтығы 2-кестеде көрсетілген. Бұл диагностикалық сарысулар бөліп алынған вирустардың типтармағын анықтау үшін қолданылды.

Клондау үшін құрамында вирусы бар аллантоисты сұйықтықты он рет сұйылту дайындап, 10-11-күнде дамып жатқан құс эмбриондарының аллантоисты қуысына (0,02 мл) енгізілген соң, 48 сағ. аралығында 37°C инкубацияланды. Вирустың барлығын гемагглютининдеуші реакциямен тексерілді. Одан кейінгі пассаж үшін вирус анықталынған шекті сұйылту қолданылды. Вирустардың жұқтырушы титрін L.Reed мен H.Muench әдісімен [111] есептеп, $lg ЭИД_{50/0,2}$ мл көрсетілді.

Кесте 2 – ГАТР анықтау үшін қолданылған диагностикалық сарысулар тізімі

Штамдарға иммундық сарысулар	Түрі/типтармағы
A/duck/Alberta/35/76 (H1N1)	H1
A/Singapore/1/57 (H2N3)	H2
A/duck/California/72(H3N8)	H3
A/duck/Czechoslovakia/1/56 (H4N6)	H4
A/duck/HongKong/205/77 (H5N2)	H5
A/turkey/Massachusetts/165 (H6N2)	H6
A/лошадь/Prague/1/54 (H7N7)	H7
A/turkey/Ontario/6118/68 (H8N4)	H8
A/turkey/Висконсин/1/66)(H9N2)	H9
A/chicken/German/49/63 (H10N7)	H10
A/duck/England/56 (H11N6)	H11

2.2.2.5 Вирустарды концентрациялау және тазалау

Құрамында вирусы бар аллантоисты сұйықтықты 30 мин аралығында +4°C жағдайда 4 500 айн/мин центрифугалаумен ағартылды. Вирусты 180 сек аралығында +4°C жағдайда 29 000 айн/мин центрифугалау жолымен қоюлатылды. Тазалау мен қоюландыруды «Aventi» центрифугасында (ротор Ti45, 29000 айн/мин, 90 мин, +4°C) сахароза тығыздығының градиентінде жүргізілді. Сахароза градиентін (30-60%) Трис-НСІ буферінде (25 мМ Трис-НСІ, 50 мМ NaCl және 2 мМ EDTA, pH7,5) дайындалды. Вирус 30 және 60%-дық сахароза ерітіндісі аралығының ажырау шекарасында жинақталып, 10 есе қоюлатылған pH 7,2 фосфатты тұзды буфер (ФТБ) көлемінде сұйылтылып, 2 сағ. аралығында +4°C жағдайда 29 000 айн/мин центрифугалаумен қайта тұндырылды. Вирустың тұнбасын ФТБ минимальді көлемінде қайта суспендирлендірілді, кейін НА белсенділігі мен белок концентрациясы анықталынды.

2.3 Молекулалық зерттеу әдістері

2.3.1 Рибонуклеин қышқылын бөліп алу

Вирустық РНҚ бөлуді QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen, АҚШ) жиынтығын қолданып, өндіруші хаттамасына сәйкес жүргізілді. РНҚ ауыз қуысының жағындыларының және аллантоисты сұйықтықтың 140 мкл бөліп алынды және ақырғы көлемі 60 мкл деиондалған сумен ерітілді.

2.3.2 Кері транскрипциялы полимеразалық тізбектік реакция

ҚТВ мониторингін жүргізуде жинақталған, ИФТ оң нәтиже көрсеткен сынамалардың кДНК аймақтарын амплификациялау ПТР жүргізілді және амплификация фрагменттерін детекциялау гибридизация-флуоресценциялы форматында іске асырылды. Кері транскрипциялы полимеразалық тізбектік реакцияны (КТ-ПТР) қою үшін 3 праймерді (М ген Sep (тура) – AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG, Sep2 (кері) – TGC AAA AAC ATC TTC AAG TCT CTG, SePRO (зонд) – FAM-5'-TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA-3'-TAMRA [112]) QuantiFast RT-PCR Kit (Qiagen, АҚШ) жиынтығын пайдаланып жүргізілді.

Вирустық РНҚ амплификациялауға арналған нақты уақыттағы КТ-ПТР-қоспасы келесі компоненттерден тұрады: Тақ ДНК полимеразы – 0,5 мкл (5 бірлік/мкл); 2x mix Probe ПТР-буфер – 12,5 мкл; ROX dye solution бояу 1 мкл; арнайы праймерлер (10 пМ) тура мен кері праймер – әрқайсысы 1 мкл және де зонд 0,5 мкл; РНҚ – 5 мкл. Деиондалған су – 3,5 мкл. КТ-ПТР арналған температура-уақыттық тәртібі келесі бағдарламаға сай жүргізілді:

кері транскрипция 50°C – 30 мин,

бастапқы денатурация 95°C – 2 мин

амплификация 40 цикл;

денатурация 95°C – 10 сек

праймерлер дәнекерленуі 60°C – 30 сек

тізбектің ұзаруы - синтез 72°C – 10 сек

ақырғы сатыда соңғы элонгация 72°C – 10 мин.

Амплификация Real Time 7500, Applied Biosystems (АҚШ) амплификаторында жүргізілді.

ПТР нәтижесінде вирустық жүктемені анықтау маңызды болып табылады. Вирустық жүктеме – 1 мл биоматериалда вирустың қанша мөлшері барын анықтайды. Вирустық жүктемені шартты анықтау үшін талдау нәтижесінде C_t (cycle threshold) ретінде көрсетілетін “шекті цикл” көрсеткішін пайдаланады. Ол вирус анықталған шекті цикл болып табылады. Сәйкесінше, үлгіде вирус бөлшектері көп болған сайын, тест-жүйе оны соншалықты жылдамырақ анықтайды.

Зерттелінген ҚТВ штамдарының толық геномын секвенирлеу КТ-ПТР Eppendorf Gradient термоциклерінде КТ-ПТР жиынтықтарының көмегімен (One Taq One-Step RT-PCR Kit, New England Biolabs, АҚШ) өндіруші хаттамасына сәйкес ҚТВ толық геномын арнайы секвенирлеуші жұп праймерлерін қолданып жүргізілді (3-кесте).

ҚТВ штамдарын секвенирлеу үшін вирустық РНҚ амплификациялауға арналған КТ-ПТР-қоспасы келесі компоненттерден тұрады: Тақ ДНҚ полимераза – 0,5 мкл (5 бірлік/мкл); ПТР-буфер – 12,5 мкл; арнайы праймерлер (10 пМ) тура мен кері праймер – әрқайсысы 0,25 мкл; РНҚ – 5 мкл. Деиондалған су – 6,5 мкл. КТ-ПТР арналған температура-уақыттық тәртібі келесі бағдарламаға сай жүргізілді:

кері транскрипция 48°C – 45 мин
бастапқы денатурация 94°C – 2 мин
амплификация 40 цикл;
денатурация 94°C – 30 сек,
праймерлер дәнекерленуі 52°C – 30 сек
тізбектің ұзаруы - синтез 72°C – 90 сек
ақырғы сатыда соңғы элонгация 72°C – 10 мин.

Ал ПТР өнімі 1500 ж.н. ұзын болатын НА мен НА гендеріне арналған праймерлер үшін бұл бағдарлама аздаған модификациялармен жүргізілді:

кері транскрипция 48°C – 45 мин
бастапқы денатурация 94°C – 2 мин
амплификация 40 цикл;
денатурация 94°C – 30 сек,
праймерлер дәнекерленуі 56°C – 30 сек
тізбектің ұзаруы - синтез 72°C – 2 мин 30 сек
ақырғы сатыда соңғы элонгация 72°C – 10 мин.

Амплификация MiniAmp Plus, Applied Biosystems (АҚШ) амплификаторында жүргізілді.

Анықталған А типті тұмау вирусын секвенирлеу үшін вирустың толық геномын тізбектеуге арналған 3-кестедегі праймерлер (10 пМ) қолданылды. Амплификация келесі параметрде жүргізілді:

денатурация 96°C – 10 сек,
праймерлер дәнекерленуі 50°C – 05 сек
тізбектің ұзаруы - синтез 60°C – 4 мин

Кесте 3 – ҚТВ толық геномын секвенирлеуші праймерлер тізімі

Геннің қысқа атауы (ұзындығы)	Праймердің атауы: нуклеотидтік тура 3' тізбегі	Праймердің атауы: нуклеотидтік кері 5' тізбегі	Күтілетін өнім ұзындығы
PB2 (2341)	PB2 F1: AGC AAA AGC AGG TCA [113]	PB2 R 1032: CTY GTT CTT TTG AAA GTG AA [113]	1032
	PB2 F781: GAG AAA TGA TGA TGT TGA CCA [113]	PB2 R 1734: GGR TCT TGT GAC CAT TGA AT [113]	953
	PB2 F 1625: TCG TCA TCA ATG ATG TGG GA [114]	R5 REV: TAA TAC GAC TCA CTA TAA GTA [113]	718
PB1 (2341)	Bm-PB1-1: TAT TCG TCT CAG GGA GCG AAA GCA GGC A [114]	PB1-1262R: TTR AAC ATG CCC ATC ATC AT [115]	1262
	PB1-1124F: ARA TAC CNG CAG ARA TGC T [115]	Bm-PB1-2341R: ATA TCG TCT CGT ATT AGT AGA AAC AAG GCA TTT [114]	1217
PA (2233)	Bm-PA-1: TAT TCG TCT CAG GGA GCG AAA GCA GGT AC [114]	PA-1498R: TNG TYC TRC AYT TGC TTA TCA T [115]	1498
	PA-747F: CAT TGA GGG CAA GCT TTC [115]	Bm-PA-2233R: ATA TCG TCT CGT ATT AGT AGA AAC AAG GTA CTT [114]	1486
HA (1778)	SZAHAF: CTC GAG AGC AAA AGC AGG GG [116]	SZAHAR: AGT AGA AAC AAG GGT GTT TTT [116]	1778
NP (1565)	SZANPF: CTC GAG AGC AAA AGC AGG GT [116]	E001 NP-734R: ATT TTC CCT TTG AGG ATG TTG CAC ATT C [115]	734
	E003 NP-517F: GGA ATG GAY CCC AGG ATG TGC TC [115]	SZANPR: AGT AGA AAC AAG GGT ATT TTT C [116]	1048
NA (1413)	SZANAF: AGC AAA AGC AGG AGT TTA AAA TG [116]	SZANAR: AGT AGA AAC AAG GAG TTT TTT [116]	1413
M (1027)	SZAMF: CTC GAG CAA AAG CAG GTA GAT [116]	SZAMR: AGC AAA AGC AGG GTG ACA AA [116]	1027
NS (890)	SZANSE: AGC AAA AGC AGG GTG ACA AA [116]	SZANSR: ATG AGA AAC AAG GGT GTT TTT T [116]	890

2.3.3 Полимеразалық тізбектік реакция өнімдерін электрофорездік талдау

Көлденең гель-электрофорез трис-ацетатты буферде дайындалған, бромды этидимен боялған 2% агарозалық гель ерітіндісінде (Sigma, АҚШ), 88V (8 вольт/см) кернеумен Bioster (Ұлыбритания) аппаратында жүргізілді. Гель-электрофорездің нәтижелерін көру және құжаттау с GelMax® 125 Imager (Upland, АҚШ) жүйесінің көмегімен орындалды.

2.3.4 Вирустық геном сегментін Сенгер әдісі бойынша секвенирлеу

Гельден ДНҚ амплификацияланған кесінділерін тазалау GenElute™ Gel Extraction (Sigma-ALDRICH, АҚШ) жиынтығымен жүргізілді. Кесіп алынған өнім мөлшерін пробиркаға салып, өлшенді. Гельдің таза салмағынан алты көлем “Gel Sol” қосылып, “Thermomixer comfort” орналастырып, 55°C 10 мин қыздырылды (гель толық ерігенге дейін) және 10000 айн/мин 15 секунд айналдырылды.

Колонкаларды пробиркаға салынып, 500 мкл Column Prep құйылып, 13000 айн/мин 1 мин центрифугаланды. Гельдің таза салмағына екі көлем изопропанол қосып, гомогенизацияға дейін араластырылды. Колонкаға ауыстырып, 13000 айн/мин 1 мин центрифугаланды. Бос колонкаларға 700 мкл “Wash solution” қосылып, 13000 айн/мин 1 мин центрифугаланды. Ақырғы сатыда 50 мкл “Elution” ерітіндісін қосылып, 1 мин инкубацияланған соң 13000 айн/мин 1 мин центрифугаланды.

кДНҚ секвенирлеу үшін Сенгер бойынша дидеоксисеквенирлеу әдісі қолданылды [117]. ДНҚ тізбегін таңбалау үшін BigDye Ready Reaction kit v1.1., v3.1. жиынтығын, сонымен қатар тазаланған ПТР өнімдері (кДНҚ кесінділері) мен оған арналған секвенирлеуші праймерлер қолданылды. Қоспаға вирустың кДНҚ (ПТР өнім) - 4 мкл, праймер (тура немесе кері) - 3,2 pmol, ReadyReaction kit v.1.1. немесе 3.1. жиынтығы - 5 мкл, су - 10 мкл дейін қосылды.

Секвенирлеуші ПТР амплификациясы келесі температура-уақыттық тәртіпке сай жүргізілді:

бастапқы денатурация 96°C – 1 мин

амплификация 25 цикл;

96°C – 10 сек

50°C – 5 сек

60°C – 4 мин.

Байланыспаған бояудан ДНҚ тазалау CleanSeq Reagent көмегімен қоса тіркелген хаттама бойынша жүргізілді. ДНҚ секвенирлеу хаттамаға сай ABI 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ) 8-түтікті секвенаторда жүргізілді.

2.3.5 Нуклеотидтік тізбекті филогенетикалық талдау

H5 пен H9 вирустарын филогенетикалық талдау жүргізу үшін Халықаралық ақпараттар базасы GenBank пен GISAID алынған ҚТВ штамдарының тізбектері қолданылды, олар сәйкесінше 4 және 5-кесте көрсетілген. Филогенетикалық талдау жасау үшін ҚТВ типтармағына тиесілі барлық генотиптерінің референтті штамдары таңдалып алынды.

Кесте 4 – H5 вирустарын филогенетикалық талдауда салыстыруға қолданылған ҚТВ штамдары

№	Штамм атауы	Генотип	Тіркелген жыл	Орны	GenBank пен GISAID тіркелу нөмірі
1	A/Goose/Guangdong/1 Ref.	3	1996	Қытай	NC007362.1
2	A/Vietnam/1194	1	2004	Вьетнам	GQ149237.1
3	A/Duck/Hunan/795	2.1.1	2002	Қытай	CY028963.1
4	A/Whooper swan/Mongolia/244	2.2	2005	Монголия	GU186700
5	A/Chicken/Egypt/1029	2.2.1	2010	Мысыр	HQ198261.1
6	A/Bangladesh/207095	2.2.2	2008	Бангладеш	FJ573468.1
7	A/Duck/Hunan/70	2.3.1	2004	Қытай	HM172105.1
8	A/Duck/Guangdong/23	2.3.2	2004	Қытай	HM172116.1
9	A/Chicken/Primorsky/85	2.3.2.1	2008	Ресей	EPI 28437
10	A/Chicken/Guangdong/178	2.3.2.1a	2004	Қытай	AY737296.1
11	A/Duck/Quangngai/1037	2.3.2.1b	2011	Қытай	JQ898146.1
12	A/Common buzzard/Bulgaria/38	2.3.2.1c	2010	Болгария	EPI 105998
13	A/Chicken/Guiyang/3055	2.3.3	2005	Қытай	DQ992755.1
14	A/Anhui/1	2.3.4	2005	Қытай	DQ371928.1
15	A/Duck/VietNam/TMU029	2.3.4.1	2009	Вьетнам	EPI 17768845
16	A/Chicken/Bangladesh/11rs1	2.3.4.2	2011	Бангладеш	JN795924
17	A/Common Kestral/HK/2372	2.3.4.3	2007	Гонконг	EPI 12701651
18	A/Goose/Guangdong/SH7	2.3.4.4	2013	Қытай	EPI 259927
19	A/Goose/Kazakhstan/19020B	2.3.4.4b	2020	Қазақстан	EPI 1882525
20	A/Wigeon/Washington/1963 40	2.3.4.4c	2015	АҚШ	EPI 206440
21	A/Chicken/Yunnan/447	2.4	2005	Қытай	DQ095624.2
22	A/Crow/Osaka/102	2.5	2004	Жапония	AB189061.1
23	A/Duck/Shantou/4912	3	2001	Қытай	EPI 15618
24	A/Goose/Fujian/bb	4	2003	Қытай	DQ997405.1
25	A/Duck/Guangxi/668	5	2004	Қытай	DQ320879.1
26	A/Duck/Hubei/wg	6	2002	Қытай	DQ997094.1
27	A/Chicken/Hebei/326	7	2005	Қытай	DQ343150.1
28	A/Chicken/Shanxi/10	7.1	2006	Қытай	HM172113.1
29	A/Chicken/Vietnam/NCV-09	7.2	2008	Вьетнам	FJ842480.1
30	A/Chicken/ HK/YU22	8	2002	Гонконг	AY651349.1
31	A/Chicken/Anhui/39	9	2004	Қытай	HM172095.1

Кесте 5 – Н9 вирустарын филогенетикалық талдауда салыстыру ретінде қолданылған ҚТВ штамдары

№	Штамм атауы	Генотип	Тіркелген жыл	Орны	GenBank тіркелу нөмірі
1	A/Turkey/Wisconsin Ref.		1966	АҚШ	DQ067444.1
2	A/Quail/Hong Kong/G1	G1	1997	Гонконг	AF156378.1
3	A/Duck/Hong Kong/Y280	Y280	1997	Гонконг	AF156376.1
4	A/Duck/Hong Kong/Y439	Y439	1997	Гонконг	KF188265.1
5	A/Chicken/Hong Kong/ G9	G9	1997	Гонконг	AF156373.1
6	A/Turkey/California/189	H9.1	1966	АҚШ	AF156390.1
7	A/Shorebird/Delaware/9	H9.2	1996	АҚШ	AF156386.1
8	A/Duck/Hong Kong/Y280	H9.3	1997	Гонконг	AF156376.1
9	A/Quail/Hong Kong/G1	H9.4.1	1997	Гонконг	AF156378.1
10	A/Hong Kong/1074	H9.4.1.1	1999	Гонконг	GU053179.1
11	A/Chicken/Shantou/22116	H9.4.1.2	2005	Қытай	KF188323.1
12	A/Turkey/Israel/619	H9.4.1.3	2002	Израиль	EF492229.1
13	A/Chicken/Iran/SH1	H9.4.1.4	2007	Иран	GQ497135.1
14	A/Chicken/Iran/SS2	H9.4.1.5	2008	Иран	FJ794818.1
15	A/Chicken/Shandong/6	H9.4.2.1	1996	Қытай	AF508570.1
16	A/Chicken/Beijing/1	H9.4.2.2	1994	Қытай	AF156380.1
17	A/Chicken/Hong Kong/ G9	H9.4.2.3	1997	Гонконг	AF156373.1
18	A/Duck/Hong Kong/Y439	H9.4.2.4	1997	Гонконг	KF188265.1
19	A/Chicken/Sichuan/SZQ60	H9.4.2.5	2015	Қытай	KX768856.1
20	A/Chicken/Guangdong/FZH	H9.4.2.6	2011	Қытай	JF715024.1

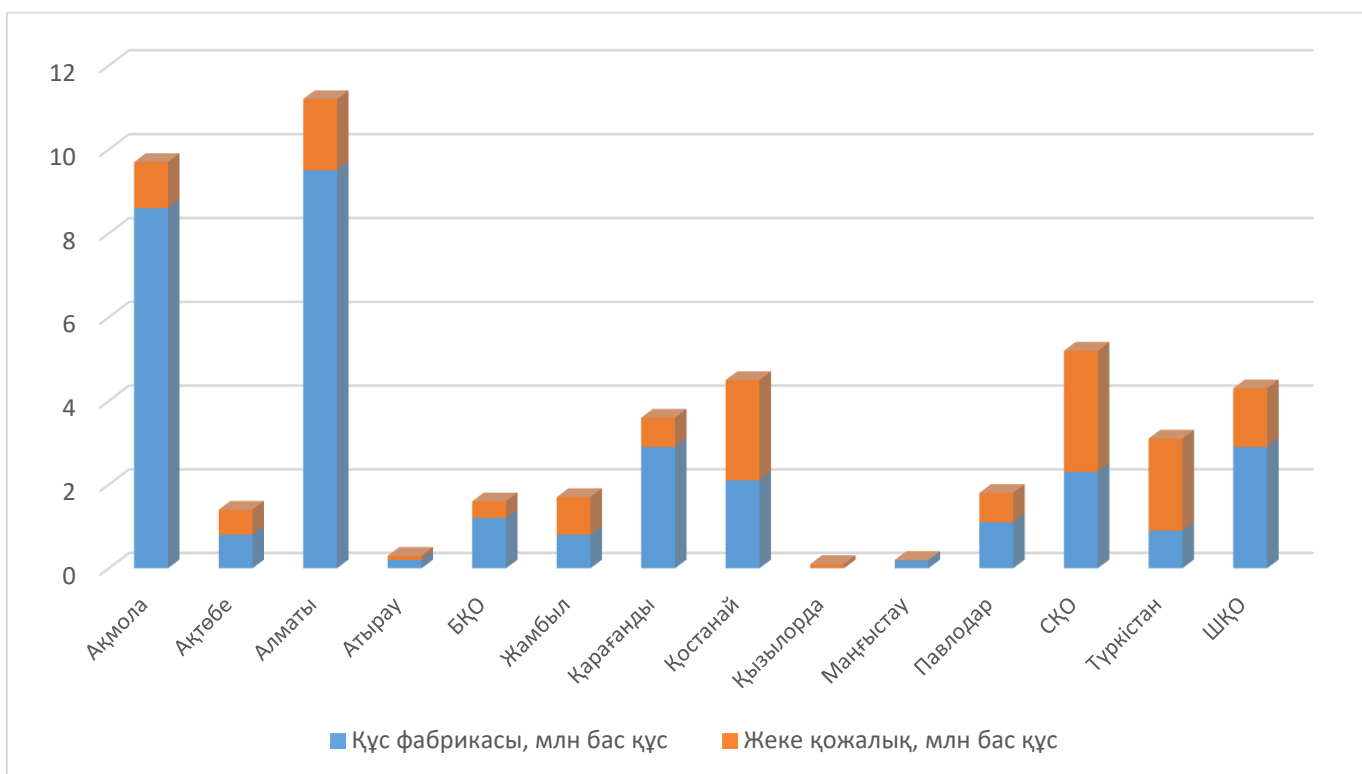
4 және 5-кестеде штамдардың атауы, бөлініп алынған жылы мен орны, сонымен қатар базадағы тіркелу нөмірі көрсетілген. Секвенирленген гендерді GenBank-тағы нуклеотидтік тізбектермен теңестіру мен филогенетикалық талдауды MEGA 11 компьютерлік бағдарламасының көмегімен «жақын көрші» (NJ «neighbor-joining») алгоритмінің негізінде максимальді шындыққа жақын үлгі (Maximum Composite Likelihood) шеңберінде одан кейінгі 100-есе ресэмплинг (resampling) негізінде жүргізілді. Зерттелініп отырған штамдардың әр түрлі генотиптерге таралуы бойынша көрнекі түсінігі үшін вирустар арасындағы эволюциялық қарым-қатынасты көрсететін филогенетикалық дарак құрылды.

Филогенетикалық дарактың құрылу сенімділігін бағалаудағы кең тараған тәсілдердің бірі қайталама іріктеу әдісіне негізделген бутстреп-талдау болып табылады. Бұл әдіс тармақтар топологиясының нақтылығын растау үшін консенсусты дарак алу кезінде қолданылды.

3 НӘТИЖЕЛЕР МЕН ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Су маңын мекендейтін және үй құстарынан биологиялық материалды жинақтау

Қазақстан аумағында тұмаудың А типті вирусының үй құстары арасында таралуын зерттеу үшін қоныс аударатын жабайы су құстары тоқтайтын суқойма, өзен мен көлдерге және көшіп-қонатын құстар жолына жақын орналасқан аудандар, осыған дейін тұмаудың А типті вирусы көптеп тіркелген аймақтар мен үй құстары көптеп өсірілетін облыстар таңдалды. Үй және жабайы құстардың тығыздығы жоғары болған сайын, инфекцияның таралу жылдамдығы мен эпизоотия пайда болу қатері жоғарылайды. Қазақстанда өсірілетін үй құстарының жалпы басының саны 2020 жылы 50 млн жуық болды (11-сурет).



Сурет 11 – 2020 жылғы Қазақстандағы үй құстарының бас саны

11-суретте көрініп тұрғандай құстардың ең көп саны 2020 жылы инфекция ошағы тіркелген Алматы, кейін Ақмола, СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Қарағанды облыстарында шоғырланған. Ал жеке шаруашылықтардағы үй құстары ең көп өсірілетін аймақ СҚО, одан кейін Қостанай, Түркістан, Алматы мен Шығыс Қазақстан облыстары болып табылады [61].

Сонымен, 2020-2022 жылдар аралығында ҚТВ мониторингі еліміздің аумағындағы алты облыста жүргізілді. Үй құстарының биологиялық үлгілері Алматы, Шығыс Қазақстан, Ақмола, Қостанай, Батыс Қазақстан мен СҚО жеке қожалықтардан жинақталды.

6-кестеде 2020-2022 жылдарда алты облыстағы жеке шаруашылықтардағы сынама жинақталған үй құстарының түрлері, аудандар мен саны көрсетілген.

Кесте 6 – 2020-2022 жылдар аралығында үй құстарынан жинақталған сынамалар жайлы ақпарат

№	Облыс	Аудан	Құс түрі				Барлығы
			тауық	қаз	үйрек	түйе- тауық	
1	Алматы	Жамбыл, Талғар, Еңбекшіқазақ, Райымбек, Ескелді, Сарқан	413	36	26	20	495
2	Шығыс Қазақстан	Тарбағатай, Зайсан, Күршім, Үржар, Алтай, Болодулиха, Глубокое, Көкпекті	560	26	12	0	598
3	Ақмола	Ерейментау, Қорғалжын, Ақкөл, Зеренді, Бурабай, Атбасар, Жарқайың, Астрахан	345	243	7	0	595
4	Батыс Қазақстан	Бөкейорда, Жанғали, Қазтал, Теректі, Бәйтерек, Бөрлі, Ақжайық, Жәнібек	559	0	17	0	576
5	Қостанай	Әулікөл, Алтынсары, Сарыкөл, Меңдіқара, Сарыкөл, Б. Майлин, Арқалық	496	52	0	0	548
6	СҚО	Жамбыл, Тайыншы, Тимирязев, Айыртау, М. Жұмабаев, Есіл, Ғ. Мүсірепов	415	59	0	0	474
	Жиыны		2 788	416	62	20	3 286

ҚТВ мониторингін жүргізу үшін іріктеме көлемі ұсынысқа сүйене отырып жүргізілді [110].

Кестеде көрініп тұрғандай 3286 үй құсының тұмсық-жұтқыншақ жағындылары мен қан сарысуы жинақталған. Қазақстанның алты облысынан жиналған сынамалардың саны мен пайыздық көрсеткіші: Алматы – 495 (15,1%), Шығыс Қазақстан – 598 (18,2%), Ақмола – 595 (18,1%), Батыс Қазақстан – 576 (17,5%), Қостанай – 548 (16,7%) және СҚО – 474 (14,4%) құрады (6-кесте).

Қазақстан Республикасы аумағында ҚТВ бойынша мониторинг жүргізу және эпизотиялық жағдайды зерттеу үшін жеке шаруашылықтар таңдалды. Зерттеуде ҚТВ антигендердің бар-жоқтығын тексеру үшін Алматы, СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Ақмола мен Батыс Қазақстан облыстарындағы жеке шаруашылықтардан жинақталған құстардың қан сарысуы қолданылды. Тұмсық-жұтқыншақ жағындылар мен қан сарысуы түрінде барлығы 3 286 биоматериал 521 жеке шаруашылық аулалардағы үй құстарынан жинақталды. Үй құстарынан (тауық, қаз, үйрек пен түйетауық) алынған сынамалардың толық тізімі мен олар жиналған орын 6-кестеде көрсетілген.

Сонымен қатар Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығында ҚТВ ауруы өршу уақытында жабайы және үй құстарынан жинақталған 147 сынамалар зерттелінді (7-кесте). Олар:

1. 2020 жылдың қыркүйек айында СҚО жеке қожалықтардағы құстардың жаппай ауруы мен қырылуы уақытында әр түрлі жастағы 35 үй құстарынан (29 үй тауығы (*Gallus gallus*), бес қаз (*Anser anser*), бір үй үйрегінің (*Anas platyrhynchos*)) трахея және клоака жағындылары жинақталды [118];

2. 2020 жылы Алматы облысында жеке қожалықтан ҚТВ ауырған үй тауығының (*Gallus gallus*) патологиялық материалы (бауыр бөлшегі);

3. 2022 жылдың желтоқсан айында Каспий теңіз Маңғыстау жағалауындағы Қаракөл көлінде қыстауда қырылған 11 құстан (он сыбырлақ аққу (*Cygnus olor*) мен бір сұңқылдақ аққудан (*Cygnus cygnus*)) жинақталған трахея және клоака жағындылар [119];

4. 2022 жылдың маусым айының ортасында Атырау облысындағы Қашаған теңіз кен орынындағы жасанды аралдарда (DC-01 және DC-04) және «Ақжайық» мемлекеттік табиғи қорықтың Зюйд-Вест аралының солтүстік бөлігінде қыстаған жабайы құстардың жаппай қырылуы кезінде жинақталған 17 құстан (жеті каспий қырқылдағы (*Caspian terns*), бес каспий шағаласы (*Caspian gulls*) мен бес сабаншы (*Pallas' gulls*)) 34 трахея және клоака жағынды мен 20 ұлпа (ми мен ішкі ағзалар) сынамалары жинақталды [120]. Ауру таралу кезінде бұл аймақта 5000 астам шағала мен қырқылдақ қырылды (11-сурет).

Ауру құстар тыныс алу жиілігінің жоғарылауы мен қанатының парезі арқасында ұшу қабілетінен айырылуы, мойынының қисықтығы мен опистотонус сияқты неврологиялық белгілермен байқалды. Далалық жағдайда сойып көру нәтижесінде тері асты, ішек пен бауырдың қанталауы, аэросаккулитпен бірге перикардит көрінді (12-сурет). Кейбір дарақтардың периклоака бөлігі нәжіспен ластанғандығы, диареяның белгісі болып табылады.

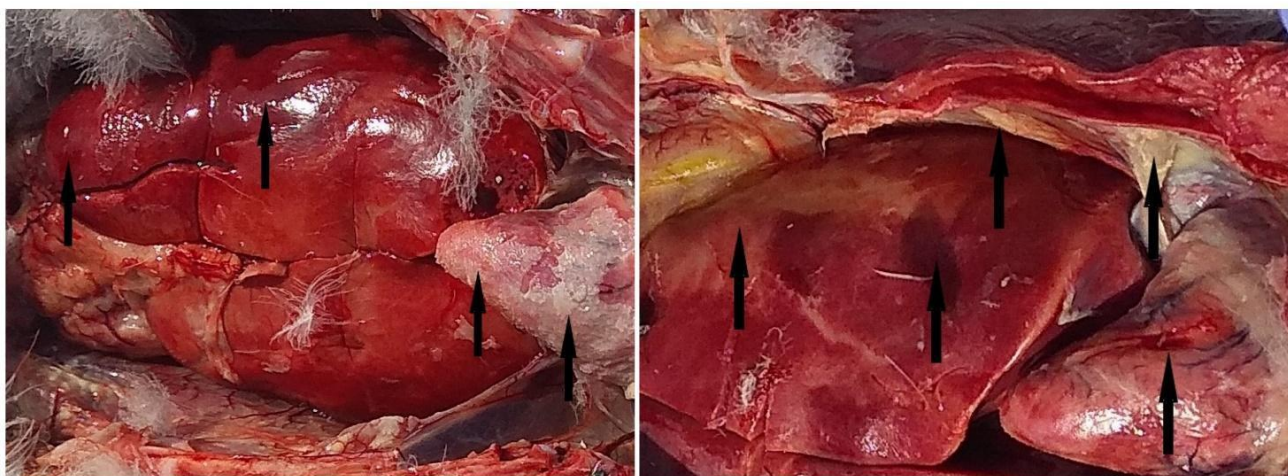


(а)



(ә)

Сурет 11 - DC-04 (а) мен Зюйд-Вест (ә) аралдарындағы қырқылдақ пен шағалалардың жаппай қырылуы



Сурет 12 – Инфекциядан өлген екі каспий шағаласының бауыры, жүрегі мен ауа қапшықтарында гепатит, бауырдың қанталауы, перикардит пен аэросаккулит белгілерін көрсетті. Қара бағыттағыш ағзалардағы патологиялық зақымдануды көрсетеді.

Сонымен зерттеу жүргізу үшін жиналған жалпы сынамалар саны мен түрі 7-кестеде көрсетілген.

Кесте 7 – Жалпы жинақталған сынамалар түрі мен саны

Сынамалардың жиналуы	Құстар	Облыс	Сынама түрлері			
			қан сарысуы	жағындылар		ішкі ағза
				трахея	клоака	
ҚазҒЗВИ тұмаудың А вирусы мониторингі	үй құстары	Алматы	495	495		
		ШҚО	598	598		
		Ақмола	595	595		
		БҚО	576	576		
		Қостанай	548	548		
		СҚО	474	474		
Жиыны			3 286	3 286		
Микробиология және вирусология ҒӨО	үй құстары	СҚО		35	35	
		Алматы				1
	жабайы құстар	Атырау		17	17	20
		Маңғыстау		11	11	
			147			
Барлығы			6719			

Нәтижесінде 2020-2022 жылдар аралығында Қазақстанда ҚТВ таралуына мониторинг жүргізу барысында жабайы құстардың қоныс аудару жолына жақын орналасқан жеке шаруашылықтардағы 3286 үй құсынан сынамалар жиналды, сонымен қатар ҚТВ жаппай таралу кезінде ауырған және өлген құстардан 147 үлгі зерттеу үшін жинақталды.

3.2 Үй құстары сынамаларын иммуноферменттік талдау

Барлық сынамалардың қан сарысуын ИФТ әдіспен зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде Алматы облысының Жамбыл және Талғар ауданынан жинақталған биологиялық материалдардан 19 оң нәтиже көрсетті. Шығыс Қазақстан облысының Тарбағатай, Үржар және Зайсан аудандарынан жинақталған қан сарысуының ішінен тоғызы оң нәтиже көрсетті. Сонымен қатар Ақмола облысының Зеренді, Бурабай, Атбасар мен Жарқайың аудандарынан жинақталған материал арасынан 72 оң нәтиже көрсетті. ИФТ жүргізу нәтижесінде барлығы 3 286 сынаманың ішінен 100 сынама (3%) ғана ҚТВ антигеніне оң нәтиже көрсетті (8-кесте).

Кесте 8 – ИФТ оң нәтиже көрсеткен үй құстарының сарысу сынамалар саны

№	Облыс	Аудан	Н5 антигеніне оң нәтиже
1	Алматы	Жамбыл, Талғар	19
2	Шығыс Қазақстан	Тарбағатай, Зайсан, Үржар	9
3	Ақмола	Зеренді, Бурабай, Атбасар, Жарқайың	72
Жиыны			100

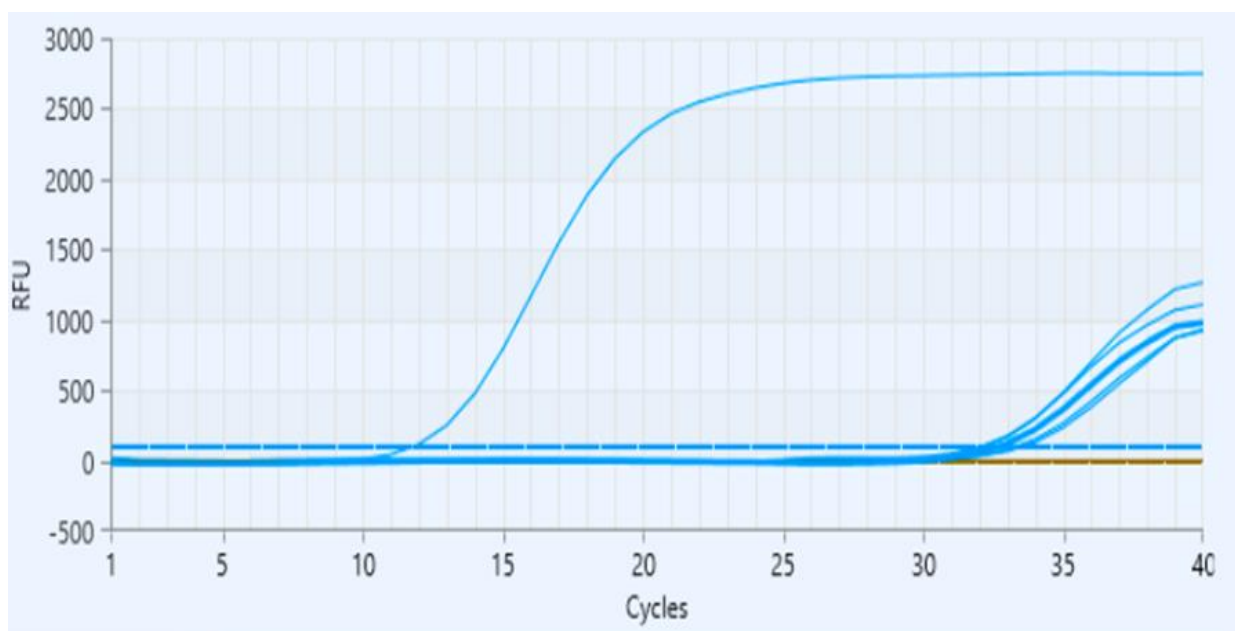
Қазақстан аумағындағы жыл құстарының ұшып өту жолдарына жақын орналасқан жеке қожалықтардағы үй құстарынан ҚТВ мониторингін жүргізу барысында жиналған қан сарысу сынамаларынан құс тұмауы ауруы қоздырғышының Н5 типтармағы антигенін анықтау кезінде Алматы, Шығыс Қазақстан мен Ақмола облысынан жеке шаруашылықтардан жинақталған сынамалар ішінен 100 оң нәтиже бақыланды. Тұмаудың А типті вирусының Н5 типтармағына антигеннің оң нәтижесінің анықталуы Қазақстанның осы облыстарында тұмаудың А вирусының әлі де таралымда болғандығын көрсетеді.

3.3 Мониторинг барысында жиналған сынамаларға ПТР жүргізу

ПТР жүргізу үшін эпизоотологиялық мониторинг барысында жеке шаруашылықтағы үй құстарының 3286 тұмсық-жұтқыншақ жағындыларын жиналған орын бойынша біріктіріп (жинақта бес сынамаға дейін біріктірілді) жүргізу шешімі қабылданды. Нәтижесінде барлығы 140 жинақ алынды, олардан нуклеин қышқылы бөліп алынып, тұмаудың А вирусының М гені тізбегіне сай келетін праймерлерді қолдана отырып орындалды.

Нақты уақыттағы КТ-ПТР нәтижесінде тек Ақмола облысынан жинақталған материал оң нәтиже көрсетті. Ақмола облысының Атбасар ауданынан жинақталған ауыз қуысы жағындыларынан 5 сынама ҚТВ М-геніне оң нәтиже көрсетті және Ct-мәні 32-35 цикл аралығында анықталынды. Оң бақылауда Ct мәні 12 циклда тіркелді (13-сурет). Ct (cycle threshold – цикл шегі) мәні сандық ПТР әдісінде шешуші мағынаға ие. Ол сынама реакциясы флуоресценция

шегінен асқан, мақсатты нуклеин қышқылының табылғандығын айқындайтын цикл нөмірі. C_t мәні төмен болуы мақсатты тізбек санының жоғарылығын көрсетеді, ал C_t мәні жоғары болған жағдайда, сынамадағы мақсатты ДНҚ мөлшерінің аз болуын білдіреді.



Сурет 13 - Ақмола облысы Атбасар ауданында жеке шаруашылықтағы үй құстарынан жинақталған сынамалардың РНҚ құс тұмауы вирусының М-генінің тізбегіне сай праймермен қойылған КТ-ПТР нәтижелері

Оң нәтиже көрсеткен 5 сынамадан тұмаудың А вирусын бөліп алу және секвенирлеу жұмыстары сәтсіз болды. Оның себебі үлгілерде C_t шамасының өте төмен болуы, құстар вирусты жұқтырып, жазылу мерзімі өтіп жатқандығын немесе оларға жеті ай алдын салынған вакцинаның нәтижесін көрсетуі мүмкін. Зерттеліп отырған құстардан сынама жинаудан жеті ай алдын тұмаудың А типті вирусының H5N1 типтармағына қарсы жоспарлы екпе жүргізілген болатын. ИФТ H5 антигеніне оң нәтиже көрсеткен үлгілерде екпенің титрі анықталған болуы мүмкін.

Айта кететін жайт, Қазақстан аумағындағы тұмаудың А типті вирусының эпизоотологиялық мониторингін жүргізу барсында жиналған ақпараттар негізінде «Жоғары зардапты құс тұмауының ену қаупі мен таралу мүмкіндіктерін талдауды ескере отырып, Қазақстан Республикасы аумағын аймаққа бөлу және аудандастыру» тақырыбында әдістемелік нұсқаулық басып шығарылды (қосымша В).

Қазақстанның Алматы, СҚО, Қостанай, Шығыс Қазақстан, Ақмола мен Батыс Қазақстан облыстарындағы жеке шаруашылықтардағы үй құстарының тұмаудың А вирусына эпизоотологиялық мониторингін жүргізу барысында жиналған сынамалардан вирусты бөліп ала алмағандықтан, Микробиология және вирусология ғылыми-зерттеу орталығының вирустар экологиясы зертханасында тұмаудың А вирусы індетін тараған мерзімде жиналған үлгілерден вирусты бөліп алу жұмыстары жүргізілді.

3.4 Тұмаудың А типі жаппай таралу уақытында жинақталған үлгілерге скрининг жүргізу

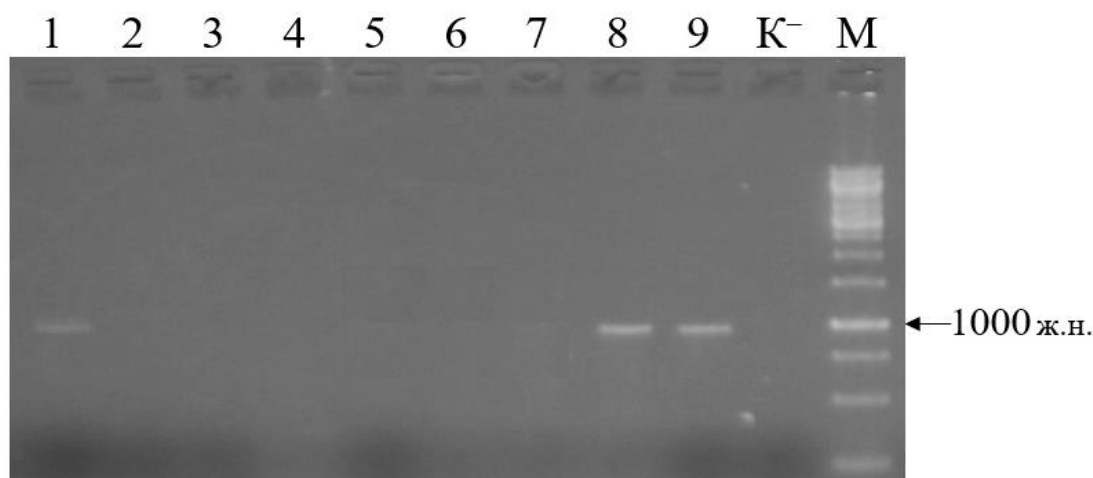
СҚО, Алматы, Маңғыстау мен Атырау облыстарында ҚТВ жаппай қырылған жабайы және үй құстарынан 2020 және 2022 жылдары жинақталған биологиялық сынамаларға КТ-ПТР скрининг жүргізілді (9-кесте). Ауру құстардың клиникалық белгілері: тыныс алуының жиілеуі, диарея мен канаттарының сал болуы, ұшуға қауқарсыздық, мойынының қисаюы мен опистотонус сияқты неврологиялық бергілер. Далалық патологоанатомиялық зерттеулер кезінде өлген құстардың тері асты, ішек пен бауырдың қанталауы мен перикардит белгілері байқалды.

Вирусологиялық зерттеулер үшін сау, ауырған және өлі 64 құстан клоака және тұмсық-жұтқыншақ жағындылары, сондай-ақ ішкі ағзаларының кесінділері жинақталды.

Кесте 9. ҚТВ таралған аймақтан жиналған сынамалар жайлы ақпарат

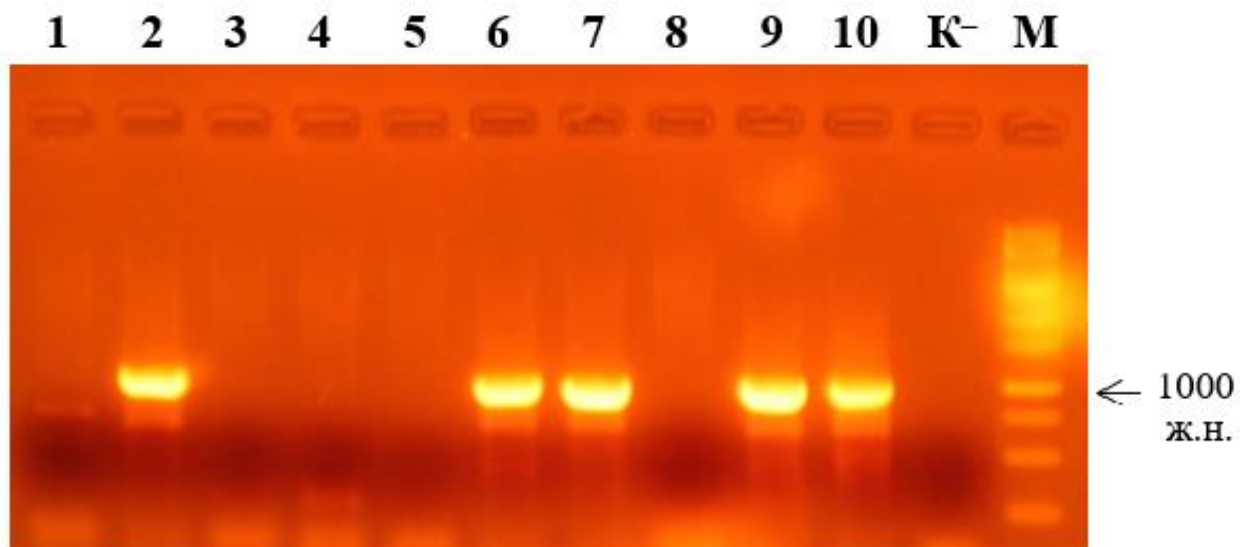
	Географиялық аймақ	Сынама саны	Жинақталған күн
1	Солтүстік Қазақстан	70	17.10.2020
2	Алматы облысы	1	Тамыз 2020
3	Атырау облысы	54	30.06.2022
4	Маңғыстау облысы	22	21.12.2022
Барлығы		147	

СҚО мен Алматы облысынан ауырған үй тауықтарынан жинақталған бастапқы материалдан РНҚ бөліп алып, КТ-ПТР әдісімен вирустың М гені аймағына сай праймермен скрининг жасау кезінде 3 оң сынама анықталды. М генінің тізбегін толық секвенирлеуші SZAMF пен SZAMR праймерлерін қолданып КТ-ПТР жүргізу нәтижесі 14-суретте көрсетілген. Мұндағы 1-3 сынамалар Алматы облысынан, ал 4-9 сынамалар СҚО алынған. ПТР өнімнің ұзындығы күтілгендей шамамен 1000 жұп нуклеотид (ж.н.) болды.



Сурет 14 – Алматы мен Солтүстік Қазақстан облысынан жиналған сынамаларға тұмаудың А типінің М геніне КТ-ПТР жүргізгеннен кейінгі электрофореграмма

Маңғыстау мен Атырау облысынан 28 ауырған су маңы құстарынан жинақталған бастапқы материалдан РНҚ бөліп алып, КТ-ПТР қолданып, вирустың М гені аймағына сай праймермен скрининг жасау кезінде 5 оң сынама анықталды. Зерттеу нәтижелері 15-суретте көрсетілген. Мұндағы 1-6 сынамалар Атырау облысынан, ал 7-10 сынамалар Маңғыстау облысынан алынған.



Сурет 15 – Атырау мен Маңғыстау облысынан жиналған сынамалардың тұмаудың А типінің М геніне КТ-ПТР жүргізгеннен кейінгі электрофореграмма

М геніне оң нәтиже көрсеткен барлық сынамалардан вирусты бөліп алу 10-11-күн дамыған құс эмбриондарының аллантоисты қуысына зерттелініп отырған материалдың әр сынамасын инокуляциялау және одан әрі оларды 48 сағ. аралығында 37°C температурада инкубациялау жолымен жүргізілді. Вирус өсірілген эмбриондардан аллантоисты сұйықтықты бөліп алған соң, ГТР жүргізілді. ГТР нәтижесі бойынша төрт түрлі індет ошағынан жиналған сынамалардың ішінен әр аймақтан титрі жоғары бір изоляттың толық геномын секвенирлеу үшін таңдап алынды (10-кесте). 2020 жылы үй тауығынан Солтүстік Қазақстаннан бөліп алынған А/184 титрі – 1:2048, ал Алматы өңірінен бөлінген А/220 титрі – 1:1024 болды. Қазақстанның батыс аймағынан бөліп алынған изоляттар титрі: А/9184 – 1:512, ал А/9421 – 1:1024 болды.

ҚТВ жаппай таралған уақытта Қазақстанның төрт аймағынан жинақталған үлгілер ішінен Алматы облысы (А/Chicken/Almaty/220/2020) мен СҚО (А/Chicken/North Kazakhstan/184/2020) үй құстарынан және де Атырау облысындағы үлкен қарқылдақ шағала (А/Caspian tern/Atyrau/9184/2022) мен Маңғыстау облысындағы сыбырлақ аққудан (А/Mute swan/Mangystau/9421/2022) бөлініп алынды (11-кесте).

Құстардан бөліп алынған изоляттардың генотипін, яғни антигендік формуласын анықтау ГАТР әдісімен жүргізілді. Осы мақсатта вирустың маңызды беттік белогы – гемагглютинин типтармағын анықтау үшін вирустың А типінің әр түрлі генотипінің диагностикалық сарысулары қолданылды (2-кесте). Бөліп алынған төрт изоляттың антигендік формуласы 10-кестеде

көрсетілген. Олар А/220/2020 – Н9, А/184/2020, А/9184/2022 пен А/9421/2022 – Н5 типтармағына жататыны белгілі болды.

Кесте 10. Бөліп алынған вирустардың титрі мен ЭИД көрсеткіштері

№	Изолят атауы	Титрі	Антигендік формула	ЭИД ₅₀ /0,2 мл
1	A/Chicken/North Kazakhstan/184/20	1:2048	Н5	8,34
2	A/Chicken/Almaty/220/20	1:1024	Н9	6,45
3	A/Caspian tern/Atyrau/9184/22	1:512	Н5	9,5
4	A/Mute swan/Mangystau/9421/22	1:1024	Н5	9,1

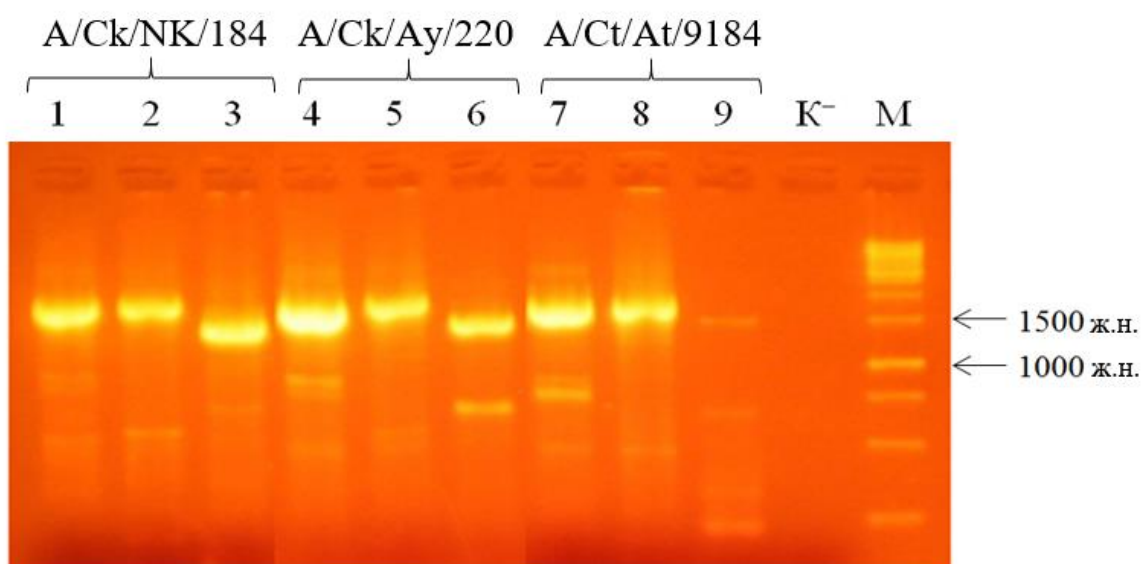
Изоляттардың инфекциялаушы белсенділігін, яғни вирустардың эмбриондарды 50%-дық инфекциялаушы дозасын (ЭИД₅₀) дамып жатқан құс эмбриондарында жүргізіліп, олар тауық эмбриондарында келесі титрге дейін өсті; ең үлкен ЭИД көрсеткіші 9,5 lg ЭИД₅₀/0,2 мл шағаладан бөліп алынған А/9184/2022 изолятта, ал ең төмен көрсеткіш 6,45 lg ЭИД₅₀/0,2 мл СҚО үй құсынан бөліп алынған А/220/2020 штаммынан анықталынды (10-кесте).

Осылайша, тұмаудың А типінің М генінің тізбегіне сай праймерлермен КТ-ПТР скринингі нәтижесінде оң нәтиже көрсеткен сынамалар, Алматы, СҚО, Атырау мен Маңғыстау облыстарынан жинақталған материалдар үй құстары мен жабайы құстардың тұмаудың А вирусымен ауырғандығын растайды және осы төрт изоляттың толық геномын зерттеп, филогенетикалық талдау жүргізу үшін таңдалынды.

3.5 Бөліп алынған изоляттардың геномын толық секвенирлеу

Бөліп алынған изоляттар геномын толық секвенирлеу үшін 13 жұп праймерлер (3-кесте) көмегімен, КТ-ПТР жүргізілді.

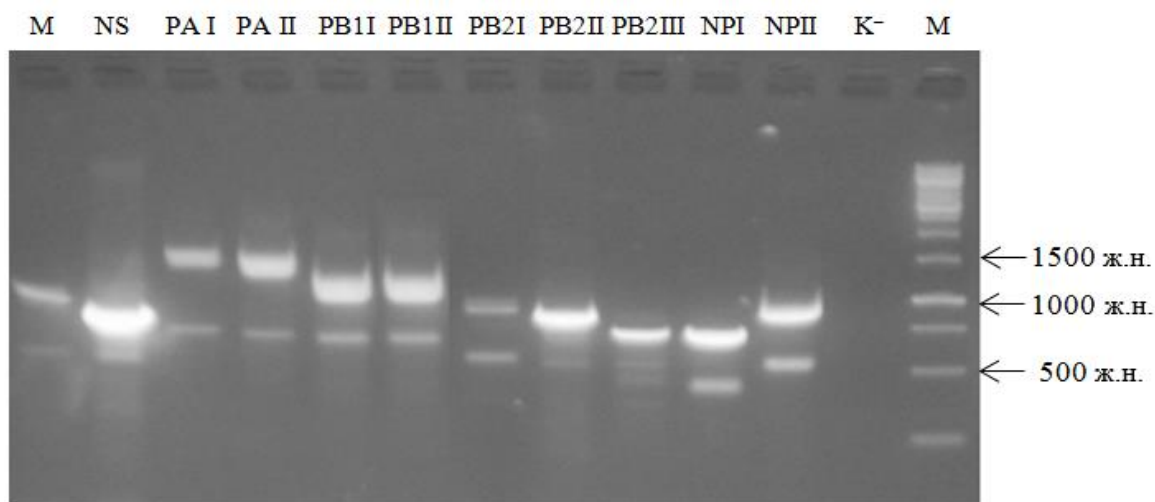
Тұмаудың А типі анықталған төрт изоляттың толық геномының нуклеотидтік тізбегін секвенирлеуші праймерлерді қолданып, КТ-ПТР жүргізілді. НА мен НА гендерінің тізбегіне сай праймерлермен амплификация өткізген соң ПТР өнімінің ұзындығы 1500 ж.н. артық болғандықтан, вирустардың осы екі гендеріне КТ-ПТР температура-уақыттық режимі аздаған модификациялармен, ішкі гендерден бөлек жүргізілді. А/Chicken/Almaty/220/2020, А/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 мен А/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 вирустарының НА мен НА геніне сай праймерлермен ПТР жүргізген соң, 1,5 % агарозалық геледе гель-электрофорез жүргізілді (16-сурет).



Сурет 16 – A/184/2020, A/220/2020 және A/9184/2022 штамдарының аллантайысты сұйықтығынан бөлініп алынған РНҚ-мен НА мен NA гендерінің аймағына сай праймерлермен КТ-ПТР жүргізгеннен кейінгі электрофореграмма нәтижесі

Ескертпе: 1, 2, 4, 5, 7 және 8 – тұмаудың А типінің НА гені мен 3, 6 және 9 – NA гендеріне оң штамдардың аллантайысты сұйықтығынан бөлініп алынған РНҚ; «K⁻» - теріс бақылау; «M» - ДНҚ маркер.

Электрофореграммада ПТР өнімі осы гендерге сай таңдалған праймерлердің күтілген мөлшерін, яғни вирустардың НА геніне шамамен 1700 ж.н., ал NA геніне 1500 ж.н. шамалап көрсетіп тұр.



Сурет 17 – A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) штамның аллантайысты сұйықтығынан бөлініп алынған РНҚ-мен PB2, PB1, PA, NP, M және NS гендерінің аймағына сай праймерлермен КТ-ПТР жүргізгеннен кейінгі электрофореграмма нәтижесі

Ескертпе: PB2, PB1, PA, NP, M және NS-гендерінің праймерлері; «K⁻» - теріс бақылау; «M» - ДНҚ маркер.

Сонымен қатар, зерттелініп отырған төрт штамның ішкі алты генін – PB2, PB1, PA, NP, M мен NS толық секвенирлеу мақсатында, осы гендердің тізбегіне сай 11 жұп праймерді қолданып КТ-ПТР жүргізілді (17-сурет). ПТР нәтижесі бойынша барлық гендерге жүргізілген ПТР өнімі күтілген мөлшері көрсетті, яғни 18-суретте көрсетілгендей солдан оңға қарай вирустың М гені – 1000 ж.н., NS гені – 900 ж.н., PA I мен PA II – 1500 ж.н., PB1 I мен PB1 II – 1200 ж.н., PB2 I, PB2 II мен PB2 III, сәйкесінше 1000 ж.н., 900 ж.н. және 700 ж.н., NP I мен NP II, сәйкесінше 700 ж.н. пен 1000 ж.н. шамасындағы ұзындықта болды.

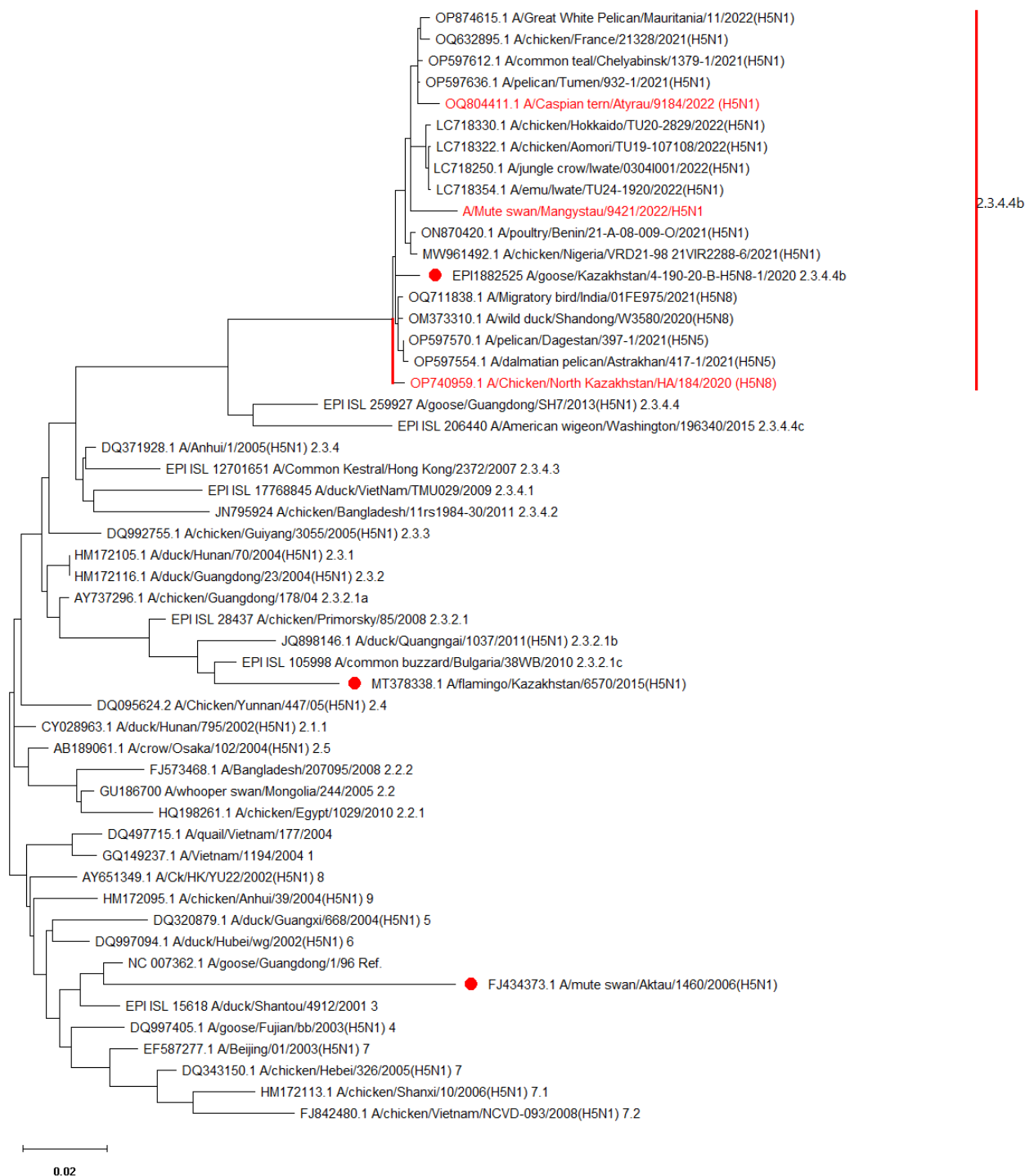
Зерттелініп отырған тұмаудың А типі изоляттарының амплификацияланған ПТР өнімдерінің нуклеотидтік тізбегін анықтау үшін одан әрі GenElute™ Gel Extraction «Sigma-ALDRICH» жиынтығымен нұсқаулыққа сай тазалап, сиквенс ПТР жүргізілді. Байланыспаған бояудан ДНҚ тазалау үшін, секвенирленген ПТР өнімдері тазалаланып, ABI 3500 DNA Analyzer 8-түтікті секвенаторда секвенирленді. Зерттелген вирустардың нуклеотидтік тізбегі жайлы ақпарат GenBank мәліметтер базасына сақталды.

A/220/2020, A/184/2020, A/9184/2022 мен A/9421/2022 изоляттарының толық геномын секвенирлеу мақсатында 13 жұп праймерлерді қолданып, КТ-ПТР жүргізілді. Жұмыстың нәтижесін бағалау және ПТР-өнім мөлшерін анықтау мақсатында гель-электрофорезде бөлу жүргізілді. Күтілген мөлшердегі ПТР-өнімнен басқа ұзындықта жанама өнім түзілгендіктен, әрі қарай секвенирлену барысында кедергі болатын, қажетсіз өнімнен арылу үшін зерттелетін өнімді тікелей гелден кесіп алынды. Таза ПТР-өнімді гелден шайып алып, вирус геномының нуклеотидтік тізбегі секвенаторда анықталды.

3.6 Қазақстандық H5 вирустарының HA және NA белогының генотиптік сипаттамасы мен эволюциялық қарым-қатынасы

HA және NA белогы вирустың қожайын клеткасымен байланысуына қатысады. Зерттелінген H5 вирустарын молекулалық сипаттау үшін олардың амин қышқылдық өзгерістерінің таралуы талданды. Секвенирлеу нәтижесінде қазақстандық тұмаудың А типі штамдарының нуклеотидтік тізбегі анықталды. Зерттеу нәтижесі бойынша A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020, A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 және A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 изоляттарының антигендік формуласы H5N1, ал төртінші изолят A/Chicken/Almaty/220/2020 H9N2 типтармағына тиесілі болды.

Зерттелініп отырған үш H5 вирустарының HA гені 1702 нуклеотидтен (567 амин қышқылынан) тұрды. Оларды филогенетикалық талдау нәтижесі бойынша HA белогының амин қышқылдық тізбегіндегі ажырау сайтының мотиві жоғары зардаптылықты білдіретін PLREKRRKR↓GLF (↓ ажырау сайтын көрсетеді) болды (12-кесте).



Сурет 18 – Зерттелген изоляттардың НА генінің филогенетикалық дарағы

Филогенетикалық талдау үшін GenBank пен GISAID ақпараттар базасынан әр түрлі жылдар мен түрлі елдерде бөлініп алынған 51 вирустың НА генінің толық тізбегі алынды. Қазақстандық штамдар 2020 жылы Қазақстанның солтүстік аймағында жабайы және үй құстары ҚТВ жаппай қырылуы кезінде белгілі болған 2.3.4.4.b генотипіне (18-сурет) [88, 119, 120] жататын ЖЗҚТ A/Goose/Kazakhstan/4-190-20-B (H5N8) вирусымен бір бұтаға жиналды. Осы ЖЗҚТ генотипі Азия мен Еуропа елдерінде құс шаруашылығына 2020 жылдан бастап үлкен нұқсан келтіруде.

Кесте 11 – Зерттелініп отырған үш H5N1 вирустарының HA генінің амин қышқылдық тізбегінің молекулалық сипаттамасы

Штамдар	Генотип	HA ажырау сайты	Рецептор байланысу сайты		N-байланысқан болжалды гликолиздеу сайты					
			222	224	11-13 NST	23-25 NVT	165 -167 NNT	286-288 NSS	484-486 NGT	543-545 NGS
Ck/NK/184/20	2.3.4.4.b	PLREKRRKR↓ GLF	Q	G	+	+	+	+	+	+
Ct/At/9184/22	2.3.4.4.b	PLREKRRKR↓ GLF	Q	G	+	+	+	+	+	+
Ms/Mu/9421/22	2.3.4.4.b	PLREKRRKR↓ GLF	Q	G	+	+	+	+	+	+

Ескерту: E, глутамин қышқылы; F, фенилаланин; G, глицин; K, лизин; L, лейцин; N, аспарагин; P, пролин; Q, глутамин; R, аргинин; S, серин; T, треонин; V, валин; -, жоқ.

Кесте 12 – Зерттелініп отырған H9N2 вирусының HA генінің амин қышқылдық тізбегінің молекулалық сипаттамасы

Штамдар	Рецептор байланысу сайты			HA ажырау сайты	N-байланысқан болжалды гликолиздеу сайты								
	183N	234L	236G		29-31	82-84	141-143	218-220	298-300	305-307	313-315	492-494	551-553
D/HK/Y280-Ref.	+	+	+	PARSSR↓GLF	NST	NPS	NVS	NRT	NTT	NVS	—	NGT	N/A
Ck/Ay/220/2020	S	+	+	PSRSSR↓GLF	NST	NPS	NVS	—	NTT	NVS	NCS	NGT	NGS

Ескерту: A, аланин; C, цистеин; G, глицин; F, фенилаланин; L, лейцин; N, аспарагин; P, пролин; R, аргинин; S, серин; T, треонин; V, валин; -, жоқ; NA, анықталмаған.

Беттік гликопротеин НА вирус бөлшегінің клетка рецепторымен байланысуы мен вирус геномының клетка цитоплазмасына енуін қамтамасыз етеді. Инфекциялық процестің іске қосылуы клетканың эндосомында НА конформациясының (клеткалық протеазамен НА1 мен НА2 суббөліктеріне алдын-ала ыдыраған) қайтымсыз өзгеруінен басталады. Ол вирус мембранасының эндосома ішіндегі клетка мембранасымен бірігуіне, оның бұзылуы мен вирус геномының цитоплазмаға шығуына әкеп соғады [121]. НА1 мен НА2 суббөліктерінің шекарасында орналасқан НА белсендіру (протеолитикалық ажырау) сайтының құрылымы, тұмаудың А типінің Н5 типтармағының детерминантты зардаптылығының негізі болып саналады [122].

ЖЗҚТ/Н5 штамдарының НА белогының протеолитикалық ажырау сайтында аргинин (R) мен лизин (K) сияқты оң зарядталған қосымша ендірмелер бар, олар –PQGER**R**KK**R**GLF– тізбегімен сипатталады [123]. Зерттеліп отырған үш изоляттың НА көрсетілген бөлшектері бірдей болды және жоғары зардапты варианттарға тән PLRE**KRRKR**↓GLF амин қышқылдар тізбегімен сипатталады (19-сурет)

НА белогының бас домені НА1 суббөлігінде рецептормен байланысу сайты орналасқан. Геннің байланысу қалташасының ішіндегі рецептор байланысатын сайттағы 222Q және 224G консервативті қалдықтары қожайын диапазонының арнайылығын анықтайды [124]. Осы рецептормен байланысатын екі амин қышқылы – 222Q және 224G барлық қазақстандық вирустарда да анықталды (11-кесте), ол вирустардың көп жағдайда құс клеткаларының рецепторларымен ғана байланысатындығын көрсетеді [125].

Н5 изоляттарының НА белогының N-байланысқан болжамды гликозилдену сайты (БГС) зерттелінді. Нәтижесінде жоғары консервативті және зерттелген вирустардың көпшілігінің НА белогында табылған N-X-T/S (мұндағы X пролиннен басқа кез-келген амин қышқылы) мотивті [126] алты БГС анықталынды. Бұл БГС 11, 23, 165, 286, 484 және 543 орында орналасқан (19-сурет, 11-кесте). Сонымен қатар зерттелінген үш изоляттың НА генін референтті штамм – A/Goose/Guangdong/1/96 мен Қазақстанда әр жылдары тіркелген Н5 вирустарының НА белогының амин қышқылдық тізбегімен теңестіріп, салыстырған сызбада олардың бір-біріне туыстығы мен алшақтығын айқын көрсетілген (19-сурет). 2020 жылы СҚО үй құстарының ҚТВ жаппай қырылуы кезінде жиналған A/Goose/Kazakhstan/4-190-20-B изоляты осы жұмыста зерттелінген A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 штамының екі орындағы мутацияны (S84N пен S124P) санамағанда толық ұқсас. Бұл штамдар бір уақытта тіркелгенімен НА генінің амин қышқылдық құрамында айырмашылығының болуы олардың жылдам өзгеруге қабілеттілігін дәлелдейді. Тіпті 2022 жылы Қазақстанның батысында тіркелген штамдарда да бірнеше амин қышқылдардың ауысуымен өзара ерекшеленеді.

Зерттелініп отырған Н5 вирустарының НА генінде амин қышқылының өзгерістері табылды, олар D97N, S133A, T156A және T188I. Аталған бірінші мутация ғана A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 штамынан табылмады, қалған барлық мутациялар вирустарда тіркелді. 97 орында орналасқан аспарагин қышқылының аспарагинге ауысуы НА адам клеткасының рецепторларымен

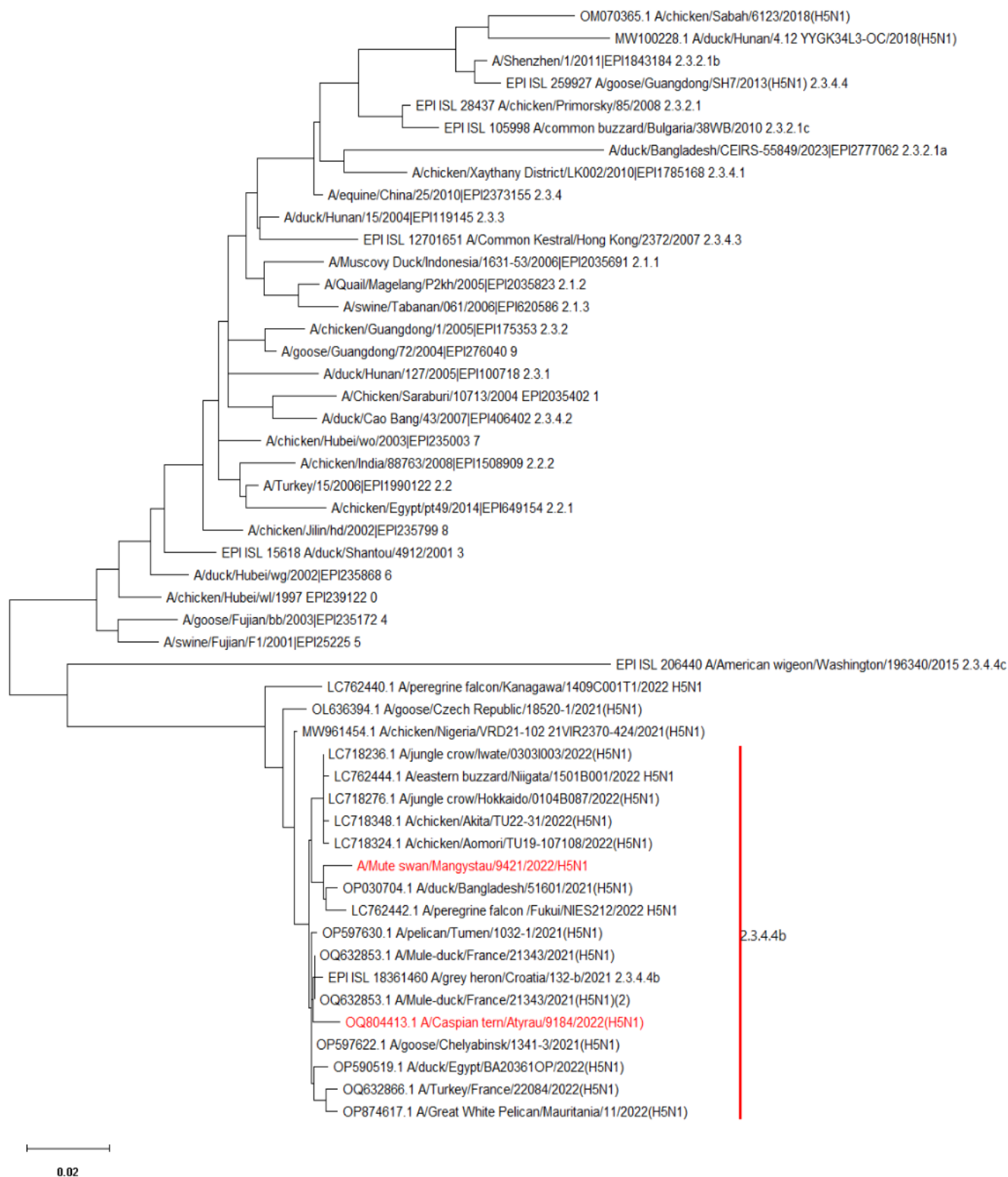
байланысуын күшейтуі ықтимал [126]. Гемагглютининнің 133 орнында сериннің аланинге ауысуы мен 156 орындағы треониннің аланинге ауысуы тұмаудың А типінің адам клеткасына бейімделуін арттырады деп болжанған [128, 129]. Т188І амин қышқылы қалдығы вирустың қожайын клеткасымен байланысуын арттырады [130].

Жұмыста зерттелінген үш Н5 изоляттарының NA типтармағы бірдей болмады. A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 штамы N8, 2022 жылы тіркелген изоляттар N1 типтармағына жатты. Сол себепті бұл штамдардың NA геніне филогенетикалық дарақ екі бөлек құрылды.

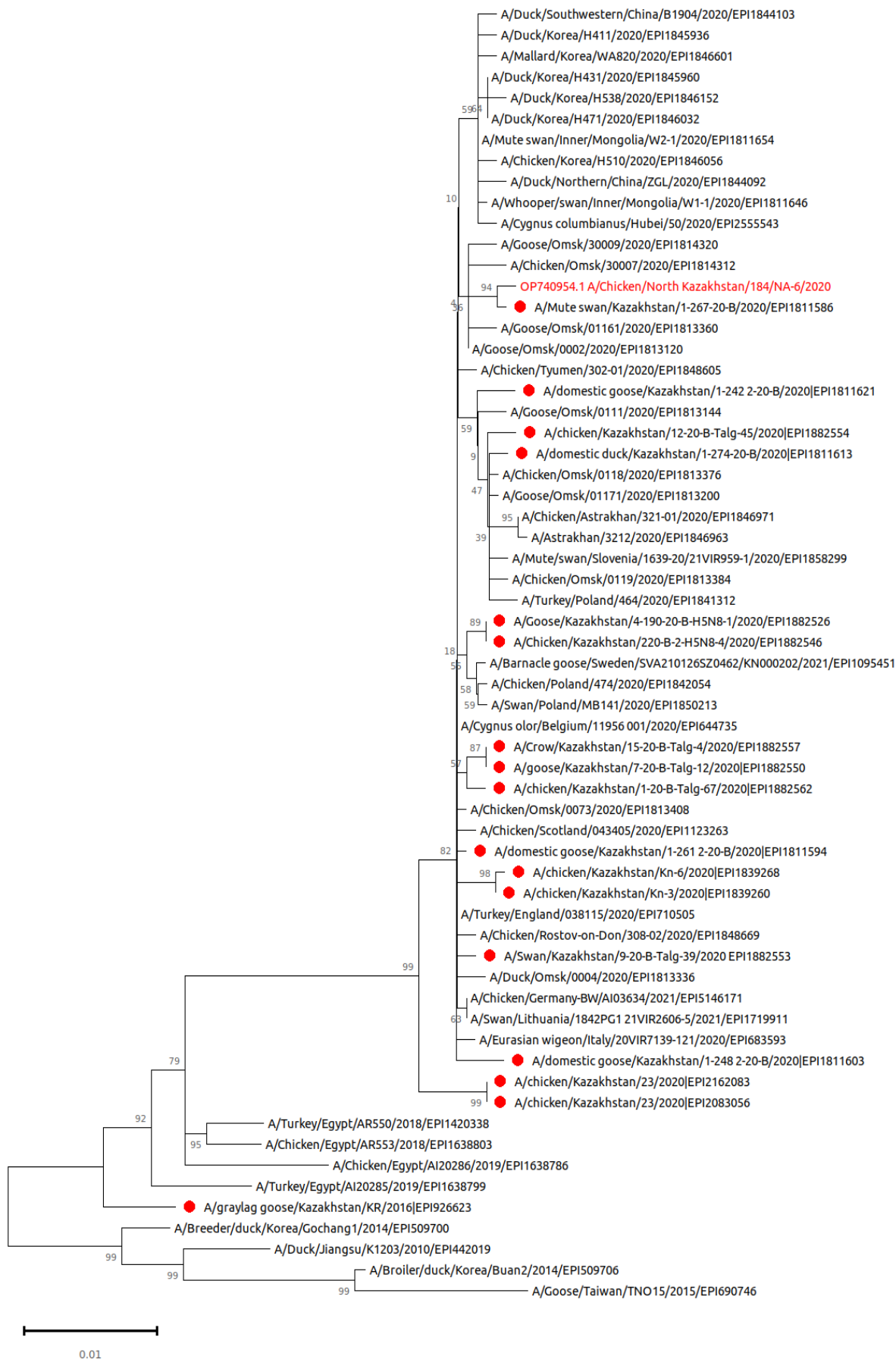
Құстардағы тұмаудың А вирусының (H5N1) эволюциялық өзара қарым-қатынасы мен антигендік дрейфінің жалпы бейнесін анықтау үшін осы қоздырғыштың соңғы тіркелген изоляттары мен белгілі генотиптерінің референтті штамдарымен филогенетикалық талдау жүргізілді. Осы мақсатта GenBank пен GISAID халықаралық ақпараттар базасындағы әлемнің әр түрлі аумақтарында негізінен 2020-2022 жж. індет кезеңінде бөліп алынған, вирустың негізгі беттік белогының бірі – NA генінің нуклеотидтік тізбектері қолданылды. Талдау нәтижелерінің филогенетикалық дарағы 21-суретте көрсетілген.

Зерттелініп отырған изоляттардың N1 геніне филогенетикалық дарақ құрып, талдау үшін H5N1 типтармағына жататын барлық генотиптерінің референтті штамдары мен A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 және A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 изоляттарын GenBank мен базасында BLAST жасау уақытында ең жақын ұқсастық көрсеткен вирустардың толық NA генін жүктеп алып жүргізілді. Каспий қырқылдағынан бөлініп алынған изоляттың NA генінің филогенетикалық талдауында ол 2021-2022 жылдары тіркелген Франция және Ресей вирустарының 2.3.4.4.b генотипіне өте жақын болды, ал сыбырлақ аққудан бөлінген вирустың NA гені де жоғарыда айтылған генотипке жатқанымен Жапония және Бангладеште табылған ЖЗҚТ туыстық жақындығы жоғары болды (20-сурет). A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 вирустың NA тізбегінің өзегі аумағында 20 амин қышқылының (45 бастан 65 дейінгі орында) делециясы бар [131], ол вирустың суда жүзетін жабайы құстардан үй құстарына бейімделуіне ықпал ететін маркер болып табылады [132, 133].

Жұмыста талданған A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 изолятының N1 геніне филогенетикалық талдау жүргізу үшін H5N8 типтармағына жататын Қазақстанда тіркелген барлық штамдар (21-суретте қызылмен белгіленген) мен осы изоляттың GenBank мен GISAID базасында BLAST жасау уақытында ең жақын ұқсастық көрсеткен вирустардың толық NA генін жүктеп алып жүргізілді. Үй тауығынан бөлініп алынған вирустың NA генінің филогенетикалық талдауында ол 2020 жылы Ресейдің Қазақстанмен шекаралас аймағына жақын орналасқан Омбы қаласынан үй құстарынан бөлініп алынған вирустарға өте жақын болды (21-сурет). Ол 2020 жылы Қазақстанда үй құстарының ҚТВ жаппай қырылуы Ресейден жабайы құстардың біздің ел арқылы Батыс Азия-Шығыс Африка немесе Қара теңіз-Жерорта теңізі құс жолы арқылы жылы жаққа көшуі кезінде ықтимал таралуына себеп болуы мүмкін.



Сурет 20 – Вирустың N1 генотиптерінің филогенетикалық дарағы

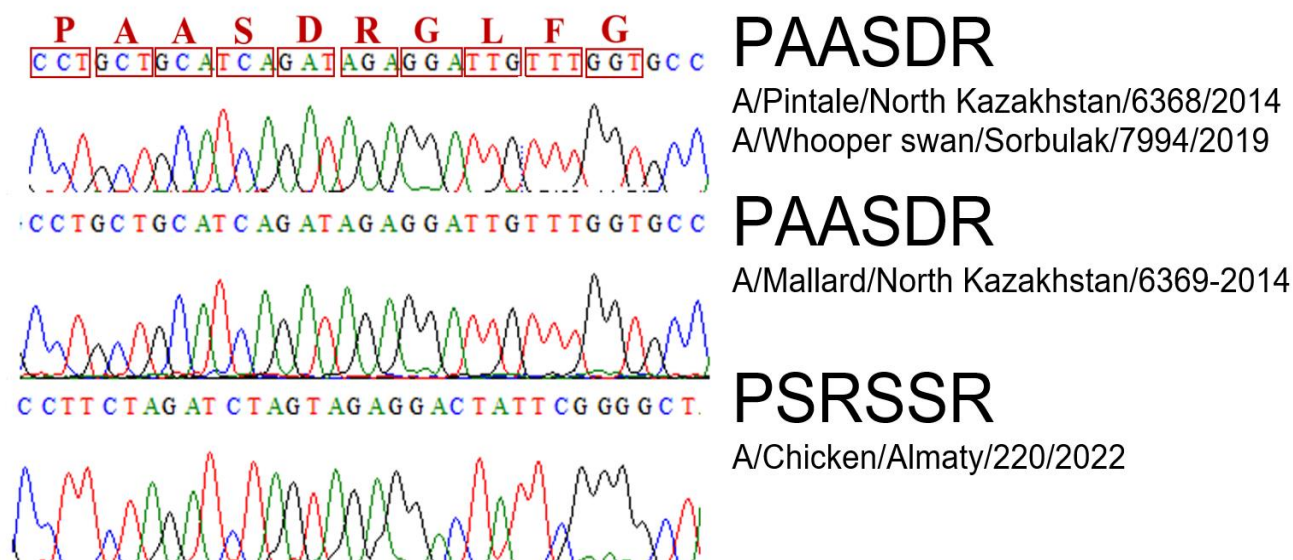


Сурет 21 – NA генінің N8 генотиптерінің филогенетикалық дарағы

Қазақстандық H5 вирустарын талдау нәтижесінде үш изолятта ЖЗҚТ жататындығы дәлелденді. Тұмау вирусының А типі 2020 жылда үй құстары арасында және 2022 жылда да су маңы құстары арасында тіркелген изоляттар молекулалық сипаттамасы бойынша өте ұқсас болуы, осы типтармақтың вирусы әлі де Қазақстан аумағындағы құс шаруашылығына қауіп төніп тұрғандығын көрсетеді.

3.7 A/220/2020 (H9N2) HA мен NA амин қышқылдық тізбегінің молекулалық сипаттамасы

Жұмыста талданған H9N2 вирусына молекулалық сипаттама жүргізу үшін осы уақытқа дейін Қазақстан аумағында тіркелген осы типтармаққа жататын үш вирус - A/Pintail/North Kazakhstan/6368/14, A/Millard/North Kazakhstan/6369/14 пен A/Whooper swan/Sorbulak/7994/19 қосып, олардың өзара амин қышқылдық өзгерістерінің таралуы салыстыра отырып талданды. Секвенирлеу нәтижесінде қазақстандық A/Chicken/Almaty/220/2020 штаммының HA гені 1683 нуклеотидтен (561 амин қышқылынан) тұратындығы анықталды. Зерттеу нәтижесі бойынша оның амин қышқылдық тізбегіндегі ажырау сайтының мотиві 2006 жылдан кейін Қытайда тараған ТЗҚТ тән – PSRSSR↓GLF болды (12-кесте, 22-сурет) [134, 135]. Ал 2014 және 2019 жылдары тіркелген штамдардың ажырау сайты көбіне Еуропа мен Солтүстік Америка елдерінде тараған H9N2 вирусына ұқсас PAASDR↓GLF мотивті болды (22-сурет) [136].



Сурет 22 – H9N2 вирустарының HA ажырау сайтының амин қышқылдық құрылымы

Филогенетикалық талдау үшін GenBank ақпараттар базасынан әр түрлі жылдар мен түрлі елдерде бөлініп алынған 48 вирустың HA генінің толық тізбегі алынды. Қазақстандық штамм 2006 жылдан Қытайда кең тараған Y280-ұқсас вирустар бұтасына жинақталды, ал 2014 пен 2019 жылы Қазақстанда тіркелген изоляттардың барлығы бірге Оңтүстік-Шығыс Азия, Корея мен Еуропа елдерінде тіркелген Y439-ұқсас вирустар бұтасына жинақталды, сондай-ақ осы

үш вирус туыстық жағынан бір-біріне өте жақындығын байқауға болады (23-сурет).



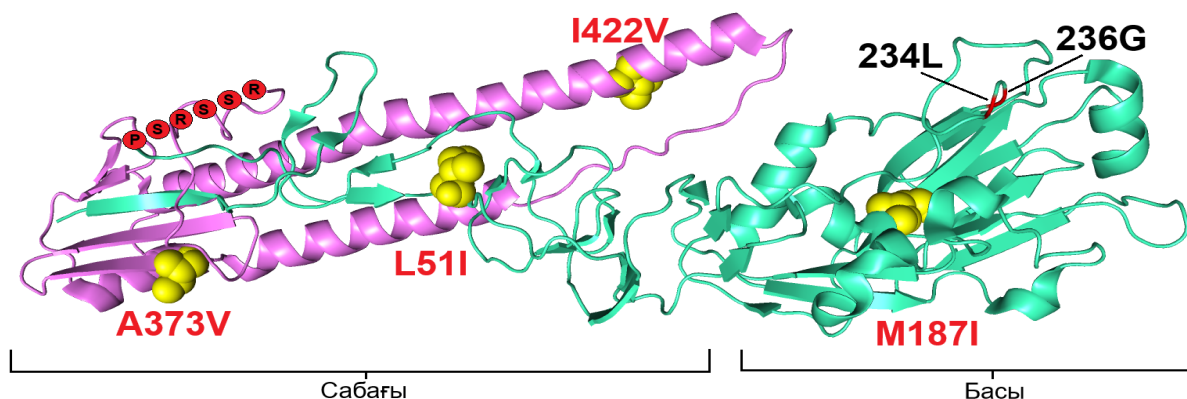
Сурет 23 –H9N2 вирусының НА генін басқа да белгілі генотиптерімен салыстырған филогенетикалық дарак

H9N2 вирустарының филогенетикалық генотипі h9.1-9.4 төрт топқа бөлінеді. Атап айтқанда, h9.1 және h9.2 ертеректе, сәйкесінше 1966 және 1990-шы жылдары тіркелген солтүстік-америкалық изоляттарға тән болды. Талдау кезінде A/Pintail/North Kazakhstan/6368/14, A/Millard/North Kazakhstan/6369/14 пен A/Whooper swan/Sorbulak/7994/19 вирустары h9.2 генотипіне жататындығы анықталды. Ең ірі генотип h9.4 екі – h9.4.1 мен h9.9.4.2 генотип тармағынан тұрады. Олар көптеген Азия елдерінде кең тараған A/quail/Hong Kong/G1/1997-ұқсас (G1-ұқсас) и A/Duck/Hong Kong/Y280/97- ұқсас (Y280- ұқсас) H9N2 вирустарына сай келеді. Зерттелініп отырған A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының НА гені h9.4.2.4 генотипіне жататындығы анықталды (23-сурет) [137].

НА рецептормен байланысу сайтында орналасқан мотив ҚТВ қожайындар тобын анықтауда маңызды рөл атқарады, сондай-ақ геннің ажырау сайты зардаптылықты анықайтын маңызды индикатор болып табылады. Белоктың белгілі-бір орындарындағы арнайы амин қышқылдарының болуы ҚТВ қожайынның рецепторымен байланысу аффинділігін (туыстығын) анықтауда шешуші рөл атқарады. Мысалы, 234 жағдайда глутамин (Q) құс рецепторымен байланысуын, ал осы орында лейцин (L) адам рецепторымен тіркелуіне ықпал етеді [138]. Сонымен қатар, 236 жағдайдағы глицин (G) адамның вирус типтес клеткалардың тропизмімен байланысты [139]. Зерттелген H9N2 вирусының НА рецептормен байланысу сайтындағы амин қышқылы Q234L мен 236G. Сондай-ақ референтті штамда 183N қосымша рецептор байланысу сайты бар (13-кесте).

PyMol биоинформатикалық сервер көмегімен А тұмау вирусының НА молекуласының кеңістіктегі моделі 24-суретте көрсетілген. A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының НА белогын моделдеу нәтижесінде кеңістікте орналасқан құрылымында рецептормен байланысу сайты басына жақын орналасқандығы көрініп тұр.

Ажырау сайты, біріншіден, белок құрылымындағы НА сабағының қожайын рецепторы мен антидене байланысатын функциялық маңызды сайты бар басының аймағынан алыс орналасқан. Екінші жағынан НА сабағының осы сайтындағы ажырау вирустың қожайын клеткаға енуіне мүмкіндік беретін конформациялық өзгерістер үшін қажет. Вирустың үй тауықтарында зардаптылығын арттырады деп болжалған механизм – ажырау сайты арқылы клеткалар мен ұлпалардың көп түрін зақымдауға мүмкіндік беретін протеазаларды қолдану арқасында ажырау тиімділігін арттырады [140]. 24-суретте көрініп тұрғандай, ажырау мотиві белоктың сызықты бөлігінде орналасуы ұзындығы мен шығу тегі әр түрлі өнімді ажырау сайтының қосылуына оңай бейімделе алады және сәйкесінше, зардаптылығы жоғары ажырау сайты бар тұмаудың А типті вирусының пайда болуын жеңілдетеді.



Сурет 24 – A/220/2020 вирусының гемагглютинин мономерінің кеңістіктегі моделі. H9 типтармағының гемагглютининнің ажырамаған негізін құрушы HA0 құрылымы: ажырау аймағының амин қышқылдық тізбегі қызыл түспен, HA1 аймағы жасыл түспен, HA2 аймағы күлгін түспен көрсетілген. Рецептормен байланысу сайты – 234L мен 236G қара шрифтпен, ал жаңа нүктелік мутациялар - M187I, A373V мен I422V қызыл түспен белгіленген.

Ескерту: A, аланин; G, глицин; I, изолейцин; L, лейцин; M, метионин; P, пролин; R, аргинин; S, серин; V, валин.

A/220/2020 (H9N2) вирусының гемагглютининнің амин қышқылдық тізбегін GenBank мен GISAID базасында тіркелген штаммдармен салыстыру нәтижесінде осы уақытқа дейін тіркелмеген жаңа нүктелік мутациялар табылды. Олар: L51I, M187I, A373V мен I422V (24-сурет).

Зерттелінген изоляттың HA белогының болжалды N-байланысқан гликолиздену сайты анықталып, сегіз БГС табылды. Бұл БГС 29, 82, 141, 298, 305, 313, 492 және 551 жағдайда орналасқан (25-сурет, 12-кесте). Бұл осыған дейін тіркелген H9N2 вирустарының көпшілігінде табылған сайттарға сәйкес болды [141, 142]. Референтті штамм A/Duck/Hong Kong/Y280/97 глобулярлы доменде орналасқан қосымша 218 жағдайда БГС анықталды, бірақ зерттелінген изоляттан табылған 313 орындағы сайты болмады. Сонымен қатар зерттелінген изоляттың HA генін референтті штамм – A/Turkey/Wisconsin/66, A/Duck/Hong Kong/Y280/97 мен Қазақстанда тіркелген H9 вирустарының HA белогының амин қышқылдық тізбегімен теңестіріп, салыстырған сызбада олардың бір-біріне туыстығы мен алшақтығын айқын көрсетілген (25-сурет). 2014 және 2019 жылдары тіркелген үш штамдары K204T, T299N мен N557S мутацияларын қоспағанда өте ұқсас. Ал үй құсынан бөлініп алынған A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының HA генінің амин қышқылдық тізбегі мүлдем басқа болуы алдында айтылған үш изолятқа туыс еместігін растайды. Бұл вирус тіпті референтті штамм A/Duck/Hong Kong/Y280/97 салыстырғанда да өзара біршама өзгешеліктері болды. Теңестіру нәтижесінде зерттелген белоктың референтті штаммен ұқсастығы 90,32% құрады.

A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	METKAIIAALLMVTAANADKICIGYQST	NST	ETVDTLTESNVPTHTKELLTEHNGVLCATDLGHPLILDCTCTIEGLIYG	NPS	CDILLGGKEWSYIVER
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	..VVSLL.TI..V..VS.	..N..A..I..M..N..S..Q..V..L..K..	..L..R..		
A/Ck/Almaty/220/20	..VSL.TI..AA.VS.	..N..A..I..M..S..Q..V..L..K..	..P..EER..		
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	..II.L.I..VT.TS.	..I..N..M..N..V..L..K..	..L..K..		
A/Ws/Almaty/7994/19	..II.L.VI..IT.TS.	..M..N..M..N..V..L..K..	..L..K..		
A/Pt/NK/6368/14	..II.L.VI..IT.TS.	..M..N..M..N..V..L..K..	..L..K..		
A/M1/NK/6369/14	..II.L.VI..IT.TS.	..M..N..M..N..V..L..K..	..L..K..		

A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	SSAVNGMCYPGNVENLEELRSLFSSAKSYKRIQIFPDKTW	WNT	YSGTSRACSNFYRSMRWLTHKSNSYFPQNAHYTNNERENILFMWGIHHPPTDTEQT		
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	P....L.....K..S..Q.....TI..S.....K..D.....Q..N..A..I..D..Q.....RGK.....N.....T..				
A/Ck/Almaty/220/20	P....L.....K..S..Q.....TI..S.....K..D.....Q..N..A..I..D..Q.....RGK.....N.....T..				
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	P....I.....F..N..R.....TI..S.....T.....V..D..Q.....GK.....I.....N.....DT..R				
A/Ws/Almaty/7994/19	P....I.....F..N..Q.....TI..S.....K..S.....V..D..Q.....GK.....I.....N.....DT..R				
A/Pt/NK/6368/14	P....I.....F..N..Q.....TI..S.....K..S.....V..D..Q.....GK.....I.....N.....DT..R				
A/M1/NK/6369/14	P....I.....F..N..Q.....TI..S.....K..S.....V..D..Q.....GK.....I.....N.....DT..R				

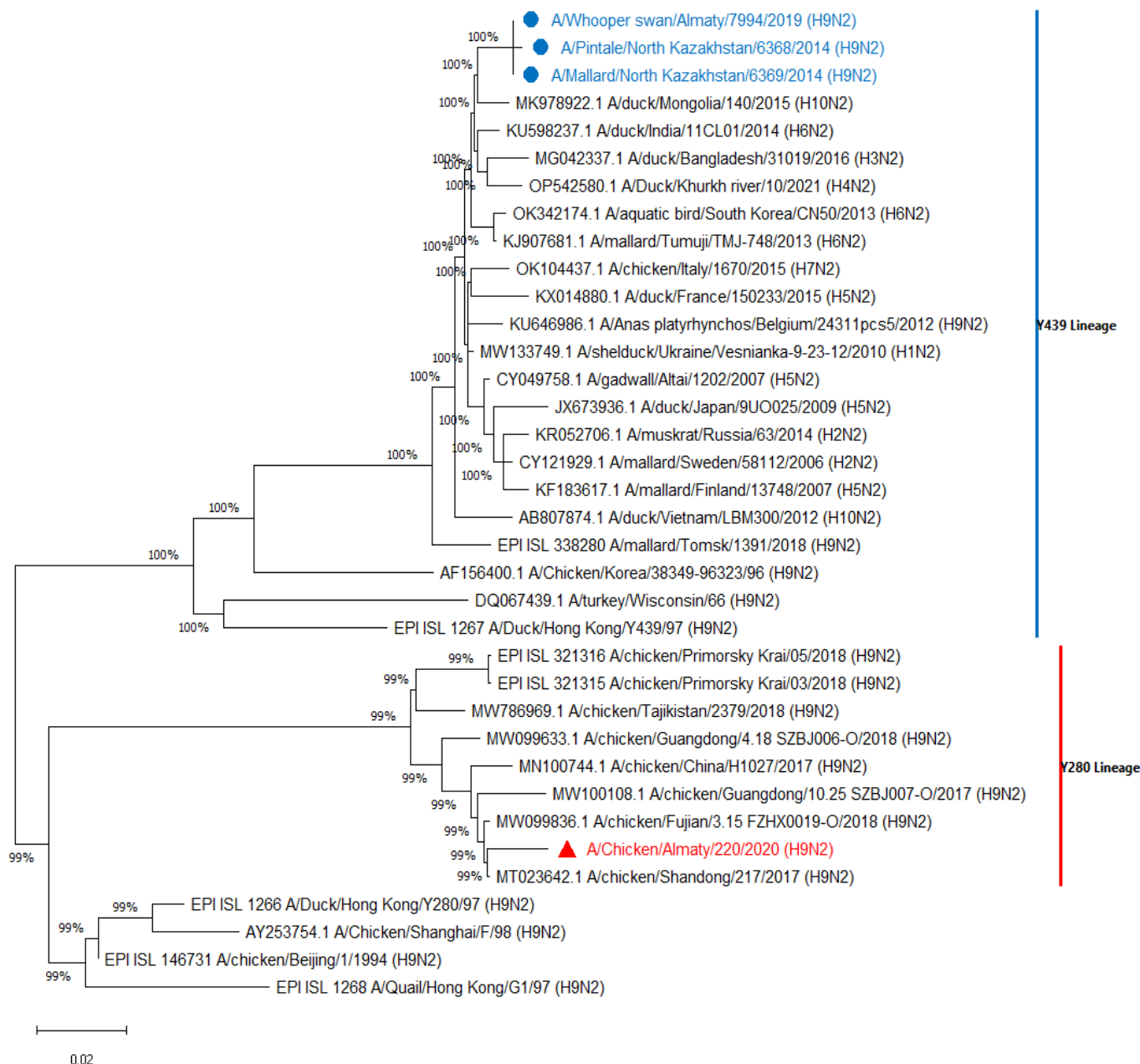
A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	DLYKNADTTTSVTTE	INRT	FKPVIGPRPLVNGQGRIDYWSVLKPGQTLRIRSNGLIAPWYGHVLTGESHGRIKTDLNNNGNCVVQCQTEKGGI	NTT	
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	N..TRT.....A.....L.....L.....LM..N.....K..D.....YI..S.....R..TK..S..T.....R..				
A/Ck/Almaty/220/20	N..TRT.....A..E..I.....L.....LM..N.....K..D.....YI..S.....R..TK..S..T.....R..				
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	N..K.....M.....D.....V.....I..S.....S.....				
A/Ws/Almaty/7994/19	N..TK.....V.....I..S.....S.....				
A/Pt/NK/6368/14	N..K.....V.....I..S.....S.....				
A/M1/NK/6369/14	N..K.....V.....I..S.....S.....				

A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	LPFH	NIS	KYAFG	NCP	KYVGKSLKLAVALGRNV	PAVSSR	GLF	SAIAGFIEGGWPLVAGWYGFQHSNDQGVGMAADKGGSTQKAIDKITSKVNNIIDKMNKQ
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	..V..	..V..	..V..	..V..	..V..	..R..	..S..	..CN..I..RD..R..V..
A/Ck/Almaty/220/20	..Q..V..	..S..I..I..	..SR..	..A..N..	..A..D..	..A..D..	..A..D..	..RE..E..V..
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	..V..	..V..	..V..	..V..	..V..	..A..D..	..A..D..	..RE..E..V..
A/Ws/Almaty/7994/19	..V..	..V..	..V..	..V..	..V..	..A..D..	..A..D..	..RE..E..V..
A/Pt/NK/6368/14	..V..	..V..	..V..	..V..	..V..	..A..D..	..A..D..	..RE..E..V..
A/M1/NK/6369/14	..V..	..V..	..V..	..V..	..V..	..A..D..	..A..D..	..RE..E..V..

A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	YEVIDHEFNELEARLNMINNKIDDQIQDIWAYNAELLVLENQKTLDEHDANVNNLYNKVKRALGNSNAVEDGNGCFELYHKDDQCMETIR	NGT	YDRQKY		
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	..I.....S..V..N.....V.....K.....K.....N..R..				
A/Ck/Almaty/220/20	..I.....S..V..T.....V.....K.....K.....N..K..				
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	..I.....S..I.....G.....K.....M.....K.....N..K..				
A/Ws/Almaty/7994/19	..I.....S..I.....G.....K.....M.....K.....N..K..				
A/Pt/NK/6368/14	..I.....S..I.....G.....K.....M.....K.....N..K..				
A/M1/NK/6369/14	..I.....S..I.....G.....K.....M.....K.....N..K..				

A/Tk/Wisconsin/66 Ref.	QEESSLERQKIEGVKLESEGTYKILTYSTVASSLVLAMGFAAFLFWAMS	NGS	CRNCNI		
A/Dk/Hong Kong/Y280/97	K.....D.....I.....				
A/Ck/Almaty/220/20	K.....D.....I.....				
A/Dk/Hong Kong/Y439/97	K.....KE.....				
A/Ws/Almaty/7994/19	K.....KE.....				
A/Pt/NK/6368/14	K.....KE.....				
A/M1/NK/6369/14	K.....KE.....				

Сурет 25 – Зерттелінген Н9 штамды Қазақстанда тіркелген басқа изоляттардың НА белогының амин қышқылдық тізбегімен теңестіру. Ажырау мен гликозилдену сайттары, сәйкесінше көк және қызыл түсті бағанмен белгіленген.



Сурет 26 – Қазақстанда және басқа елдерде тіркелген H9N2 вирустарының NA геніне филогенетикалық дарак

NA генінің филогенетикалық талдауы NA генінде анықталған эволюциялық заңдылыққа ұқсас болды. Атап айтқанда, салыстыру ретінде қолданылған үш вирус - A/Pintail/North Kazakhstan/6368/14, A/Mallard/North Kazakhstan/6369/14 пен A/Whooper swan/Sorbulak/7994/19 бір-біріне туыстығы өте жоғары болып, Y439-ұқсас линиялармен топтасты. Ал A/Chicken/Almaty/220/2020 Y280-ұқсас вирустар бұтасына жинақталды (26-сурет). Сондай-ақ бұл изоляттың NA белогының 63-65 орында TEI (треонин (T), глутамин қышқылы (E) мен изолейцинді (I) кодтайтын) амин қышқылдарының делециясы табылды (27-сурет). Ол вирустың жабайы құстардан үй құстарына бейімделуін арттыратын сабақ аймағында орналасқандығы белгілі. Бұл молекулалық маркер Қытайда

A/Duck/HongKong/Y280/97(H9N2) вирусының тізбегіне сай келеді [142, 143].

[illegible]

Сурет 27. А/220/20 изолятының НА құрамындағы ТЕІ делециясының амин қышқылдық және нуклеотидтік тізбегі

ҚТВ беттік белоктары - HA мен NA молекулалық сипаттамасы зерттелінген вирус төменгі зардапты құс тұмауы екендігін дәлелдеді. Сондай-ақ филогенетикалық талдауы A/Chicken/Almaty/220/2020 вирусы 2006 жылдан бері Қытайда кең тараған H9N2 типтармағының Y280 генотипімен бір бұтаға жинақталды. Осындай сипаттағы H9N2 вирусының Қазақстанның Қытаймен шекаралас Алматы облысындағы үй құсының қырылуын тудыруы эпизоотиялық қадағалауды күшейту қажеттілігін көрсетеді. Олай деп айту себебі, үй құсынан бөліп алынған A/220/20 изолятының маңызды беттік екі белогы – HA мен NA нуклеотидтік тібегін талдау барысында, олардың құрамында Қытайда 1997 жылы үй құстары арасында індет тудырған молекулалық маркерлер мен осыған дейін тіркелмеген нүктелік мутациялардың табылуы, бұл изолят төменгі зардапты саналғанымен, геномы жылдам өзгеріп, зардаптылығы артатын жаңа реассортантты вирустың пайда болуына әкеп соғуы мүмкін. Сондай-ақ ажырау сайты гемагглютининнің сызықты бөлігінде орналасуы ұзындығы мен шығу тегі әр түрлі вирустың ажырау сайтын оңай қосып алып, зардаптылығы жоғары тұмаудың A вирусының пайда болуын жеңілдетеді.

3.8 A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының ішкі белоктарына сипаттама

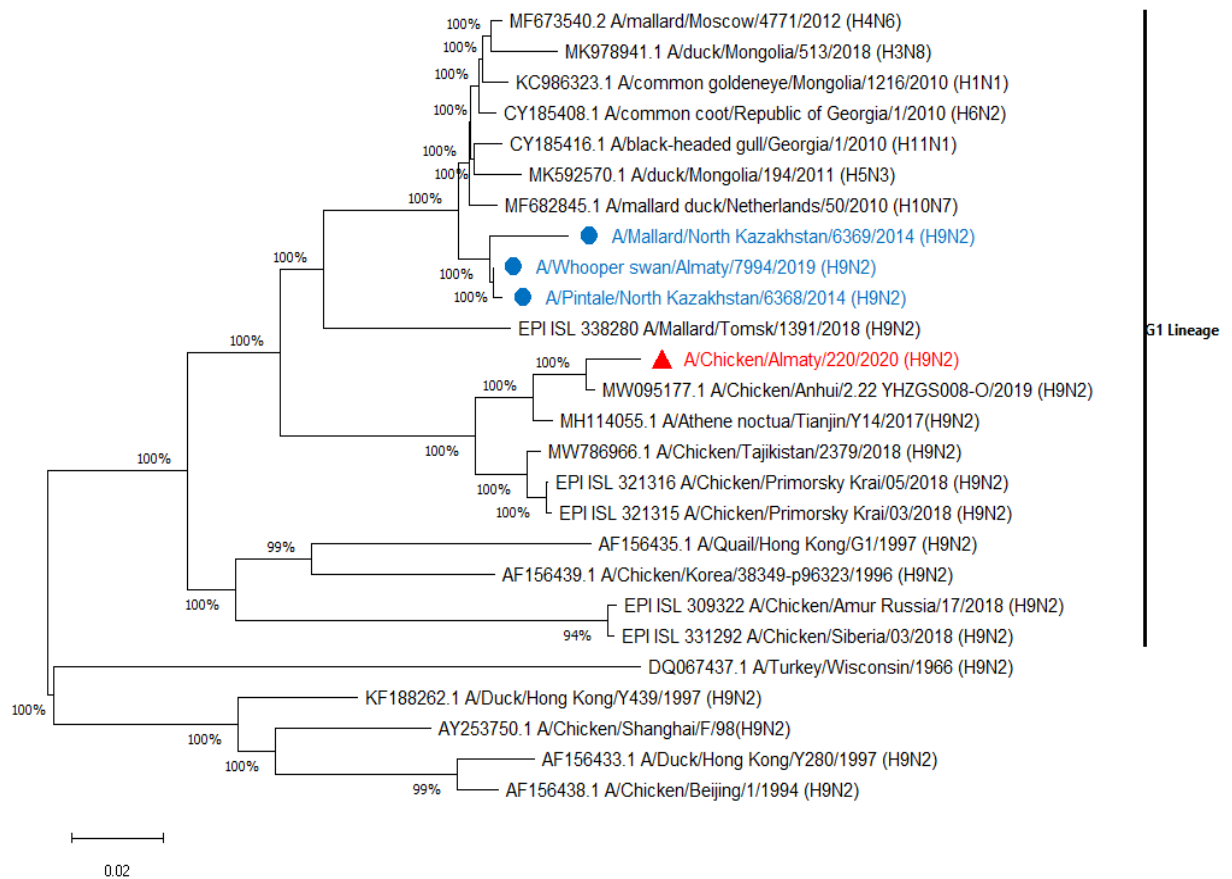
Үй құсынан алғаш рет бөлініп алынған ҚТВ қазақстандық H9N2 изолятының толық геномының филогенетикалық талдауын жүргізу және эволюциясы анықтау мақсатында, оның ішкі гендерін бұған дейін Қазақстанда және көршілес елдерде тіркелген H9N2 вирустарының ішкі гендерімен салыстыру жүргізілді.

Зерттелген Y280-ұқсас вирустың ішкі гендерінің филогенетикалық талдауы олардың Y-280 генотипіне туыстығы жоқтығы белгілі болды. Ал PB2 мен M

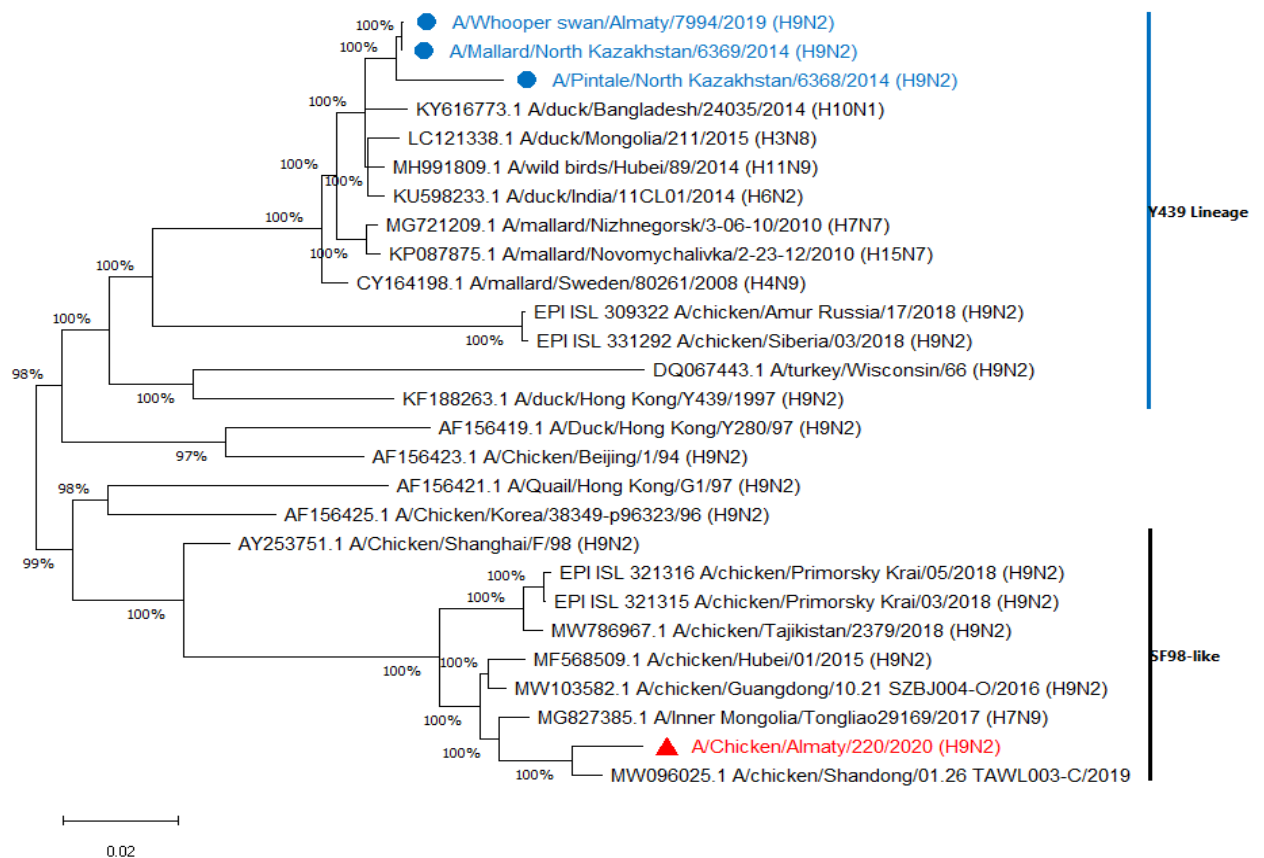
гендерінің шығу тегі G1-ұқсас (A/Quail/Hong Kong/G1/97) вирустарға, ал қалған гендері SF98-ұқсас вирустарға (A/Chicken/Shanghai/F/98) жақын екендігін көрсетті (28-сурет А-Ғ). Ал салыстырып талдау үшін алынған қазақстандық үш изоляттың тек PB2 гені ғана G1-ұқсас вирустармен бір бұтаға жиналғанын есептемегенде қалған гендері Y439-ұқсас вирустар тобына тиесілі болды (29-суретте үй құсынан бөліп алынған изолят қызыл түспен, жабайы құстардан бөлініп алынған қазақстандық изолят көк түспен белгіленген). Бұл ішкі гендер комбинациясы G1-типтес және SF98-типтес вирустардан тұратын изоляттар Қазақстанда айналыста жүргендігінің және осы вирус реассортацияға оңай түсетіндігінің дәлелі.

Зерттелініп отырған A/Chicken/Almaty/220/2020 штамының ішкі гендерін филогенетикалық талдау нәтижесі оның осы уақытқа дейін Қазақстанда тіркелген H9N2 вирустарына туыстық қатынасы жоқтығын дәлелдейді. Ал салыстыру ретінде қолданған 2014 жылы тіркелген A/Pintail/North Kazakhstan/6368 мен A/Millard/North Kazakhstan/6369 және 2019 жылы бөліп алынған A/Whooper swan/Sorbulak/7994 изоляттары бес жыл аралықта тіркелгенімен, туыстық жағынан өте жақын болуы, бұл штамның ел аумағында ұзақ уақыт айналымда жүргендігін көрсетеді.

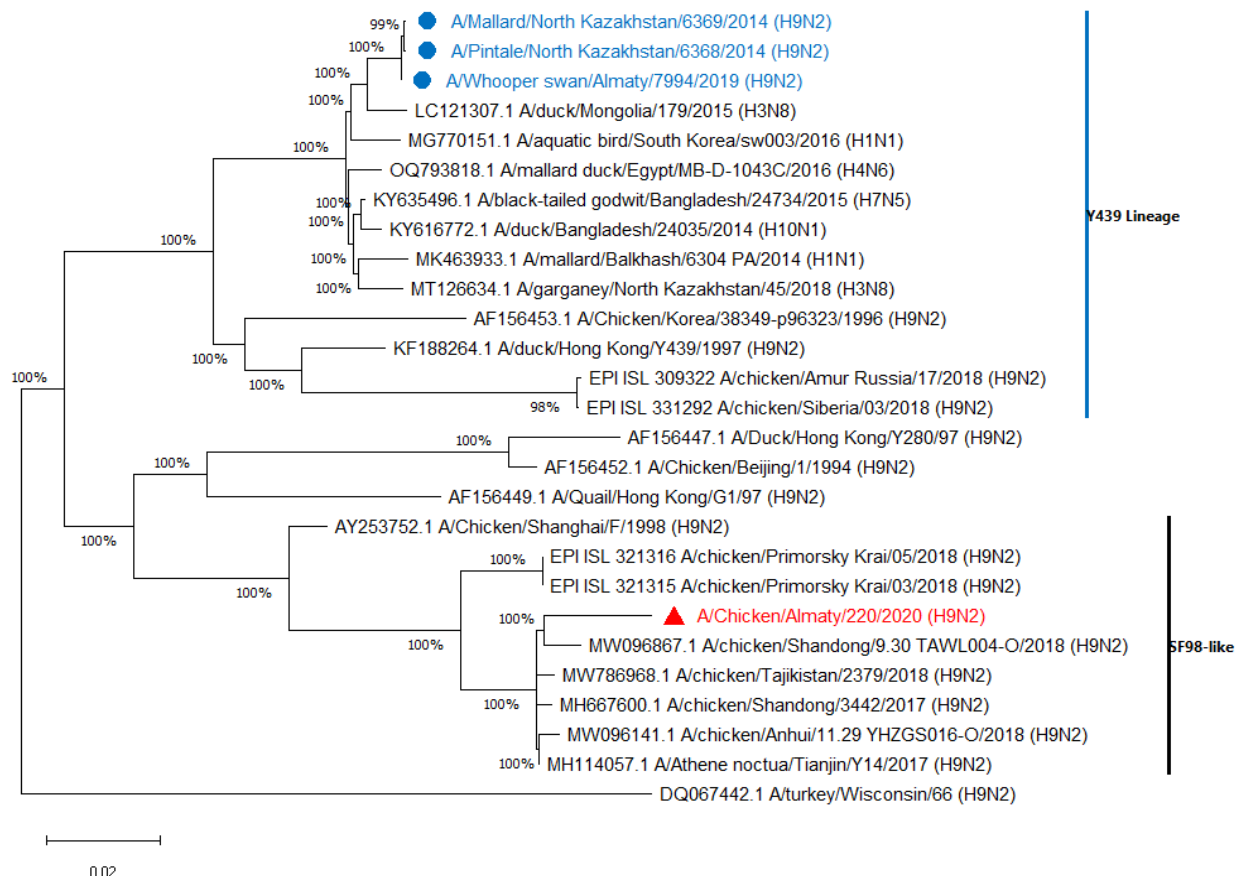
Вирустың PB2, PB1, PA полимераза-ауысу мен NP белогынан тұратын кешен ҚТВ сүтқоректілер қожайынына бейімделуінде шешуші рөл атқарады. Осы белоктардағы бірнеше амин қышқылдың ауысуы сүтқоректілер модельінде полимеразаның белсенділігі, репликациялық қабілеті мен вируленттілігінің артуына ықпал етеді [144-146]. Бұл маркерлер PB2, PB1 мен PA генінде төртеуден, M1 және NS гендерінде үшеу (14-кесте) [144, 146-150]. Сондай-ақ сыртқы HA генінде де ҚТВ сүтқоректілерге жұғып, бейімделуін арттыратын екі амин қышқылының мутациясы – S159N мен N198T табылды (14-кесте) [151].



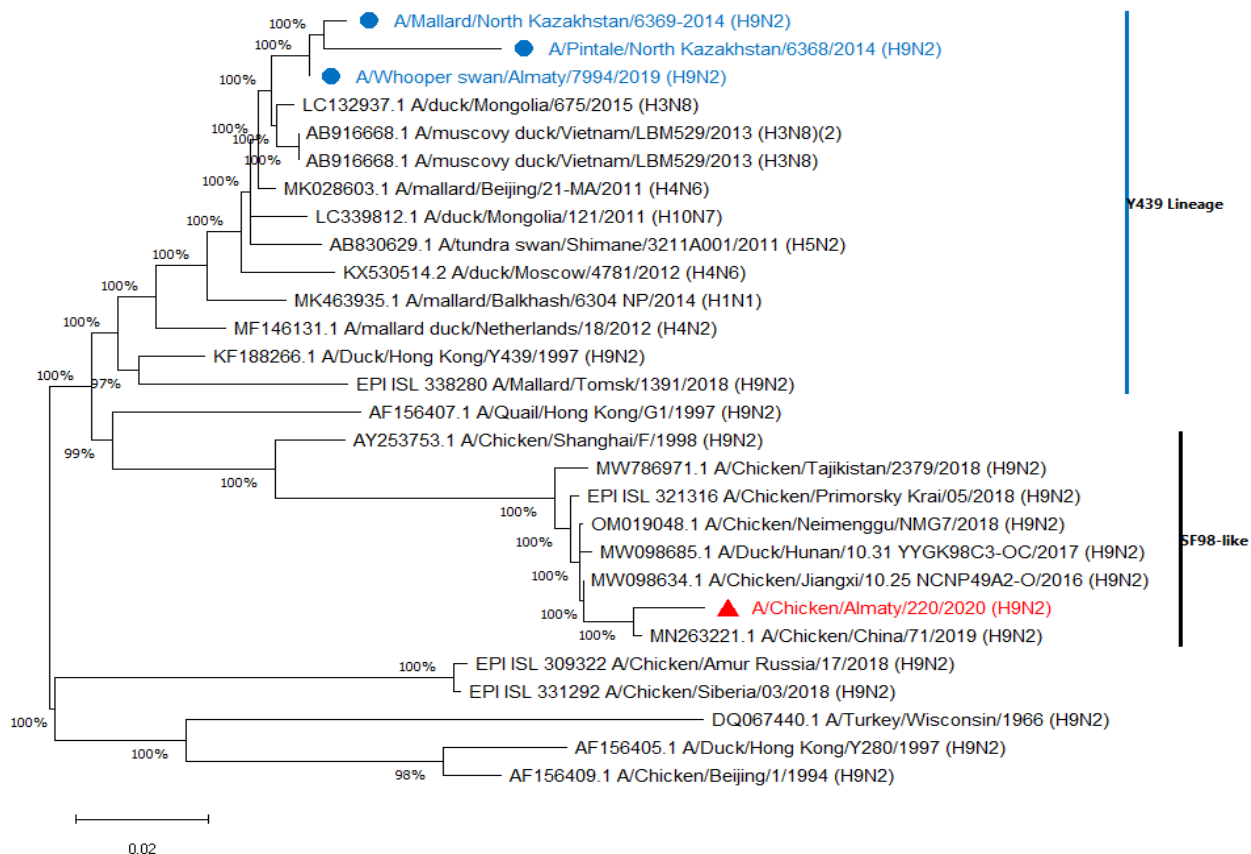
Сурет 28 А – H9N2 вирусының ішкі генінің филогенетикалық дарағы - PB2 гені



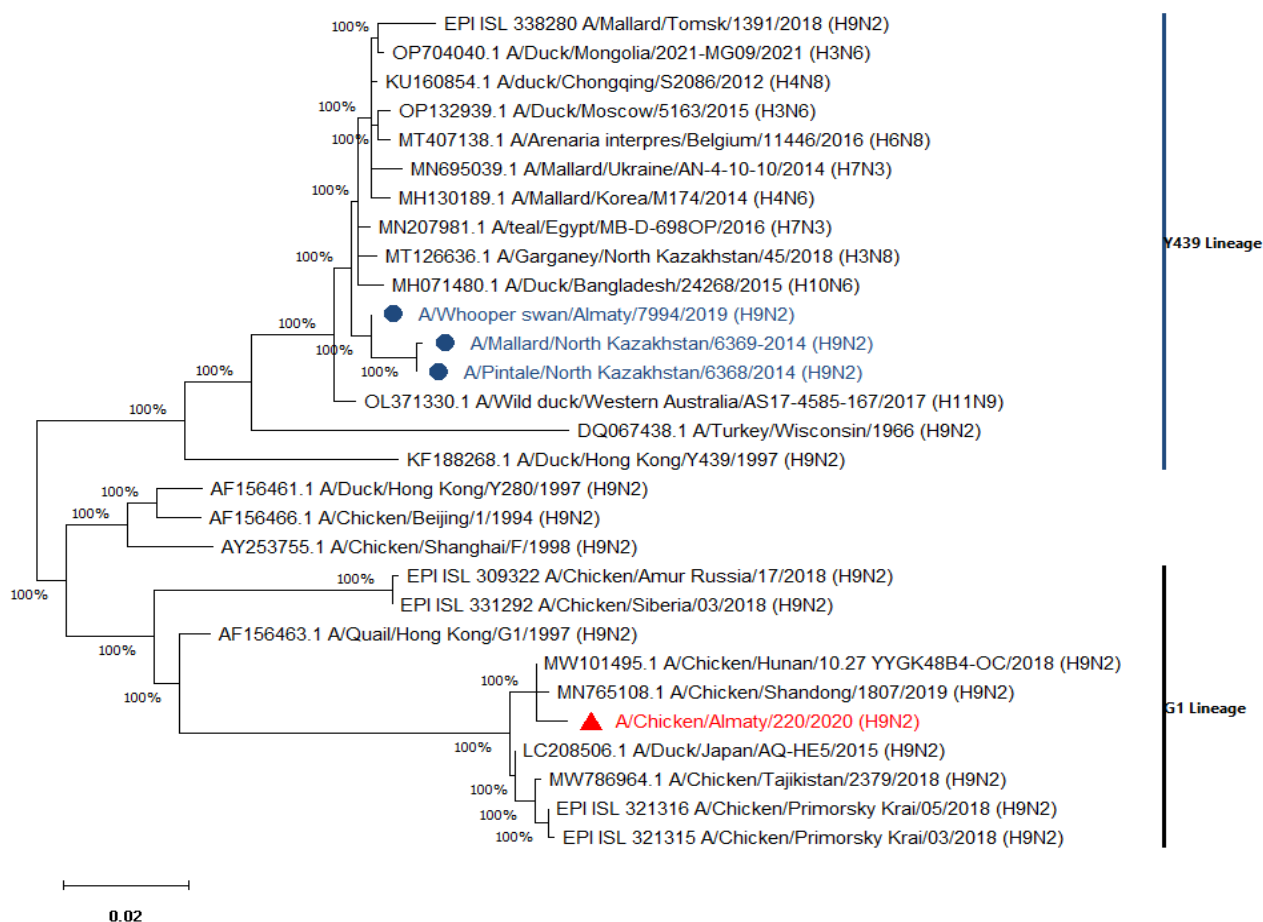
Сурет 28 Ә – H9N2 вирусының ішкі генінің филогенетикалық дарағы - PB1 гені



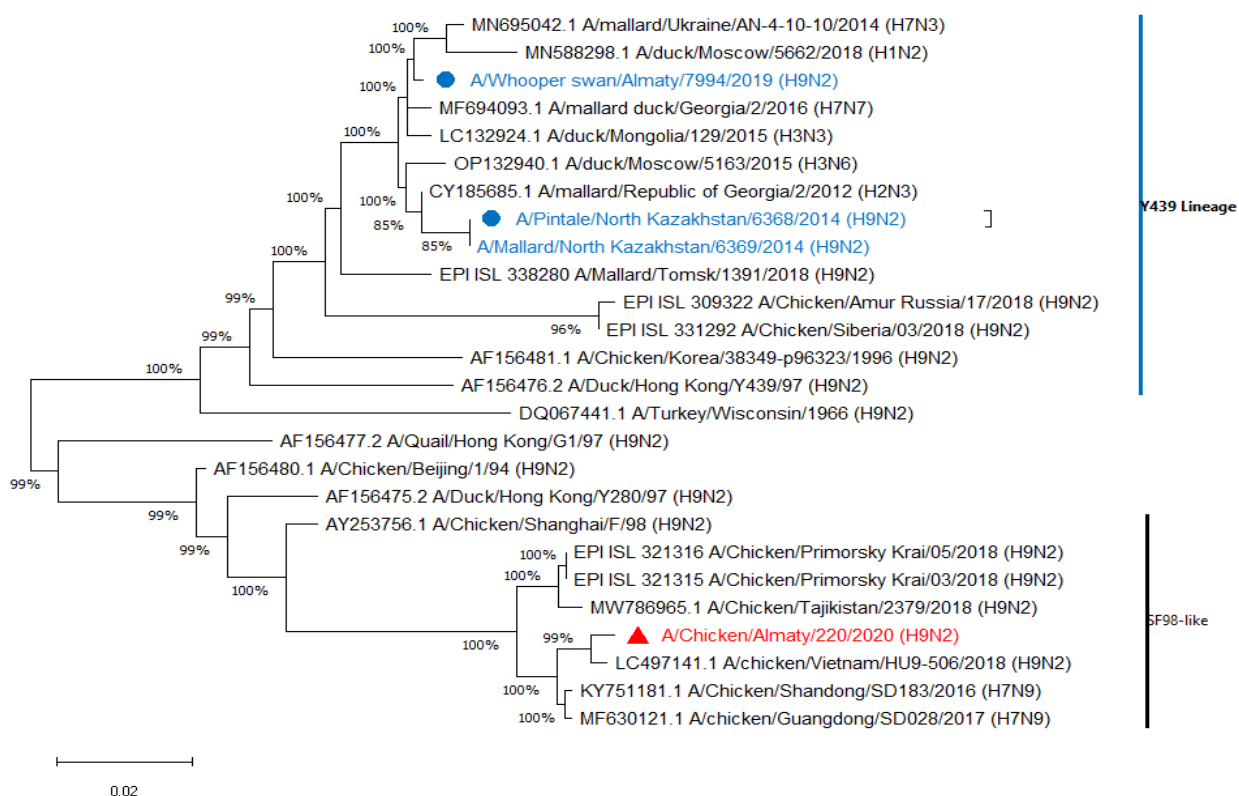
Сурет 28 Б – H9N2 вирусының ішкі генінің филогенетикалық дарағы – PA гені



Сурет 28 В – H9N2 вирусының ішкі генінің филогенетикалық дарағы – NP гені



Сурет 28 Г – H9N2 вирусының ішкі генінің филогенетикалық дарағы – М гені



Сурет 28 F – H9N2 вирустарының ішкі генінің филогенетикалық дарағы NS – гені

PB2 – E627V, PB1 – I368V, PA – 436E және NP – 136L белоктарындағы маңызды бірнеше амин қышқылдары қалдықтарының ауысуы ҚТВ жаңа кожайын түрлеріне бейімделуін арттыратындығы белгілі [143]. Зерттелген вирустың PB2 белогының 504 амин қышқылы изолейциннен валинге ауысқан – I504V, ол мутация тышқандарда вирустың вируленттілігін арттырады [152]. Сондай-ақ осы белоктарда кешенді әсер ететін L89V, G309D, R477G және I495V мутациялары табылды, бұл тышқандарда полмеразалық белсенділігі жоғары болып, вируленттілігі артуына ықпал еткен. PB2 геніндегі жақында тіркелген A588V мутациясы ҚТВ сүтқоректілерге бейімделуін арттыратын маркер A/Chicken/Almaty/220/20 изолятынан да табылды [144]. Айта кететін жайт, әдетте H9N2 вирустарының көпшілігінде бірге табылатын қос E627V және D701N амин қышқылдың ауысуы табылмады, оның біреуі ғана E627V талданған вируста кездесті. Ол адамның тұмау вирусы H9N2 A/Beijing/1/2016 мен A/Beijing/1/2017 анықталған (13-кесте) [153].

A/Chicken/Almaty/220/20 изолятының PB1 генінде ҚТВ сүтқоректілерге бейімділігін арттыратын төрт мутация тіркелді. Олар – D3V, I3P, I368V және D622G – сүтқоректілер клеткалар линиясында полимеразаның белсенділігін арттырады, вируленттілігі жоғары болады [154-157]. Әсіресе, 368 орындағы изолейцин амин қышқылының валинге ауысуы ҚТВ жаңа түрлерге бейімделуін арттыруда маңызды рөл атқарады (13-кесте) [156].

PA белогына қатысты айтатын болсақ, мұнда V63I, K356R және N383D орнындағы амин қышқылдардың ауысуы сүтқоректілер клеткаларында полимераза белсенділігі мен репликацияны арттырады, сонымен қатар тышқандарда вируленттілігі жоғары болады [144, 156, 158]. Тағы да маңызды мутация тізбектегі 436 орында глутамин қышқылы болғанда ҚТВ жаңа түрге бейімделуін жоғарлатады (13-кесте) [143].

Зерттелген вирустың M1 белогында табылған N30D мен T215A мутациялары тышқандарда вируленттіліктің жоғары болуымен байланысты [159, 160]. Ал тізбектегі 43 амин қышқылының изолейциннен метионинге ауысуы тышқандар, үй тауығы мен үйректе вируленттілігі жоғары болатындын көрсеткен [161]. NS1 белогында үш мутация табылды – P42S, C138F және V149A. P42S бен V149A амин қышқылдарының ауысуы тышқандарда вируленттіліктің жоғары болуына ықпал етсе, C138F және V149A мутация тіркелген жағдайда вирусты интерферонның тануы төмендейді (13-кесте) [160-162].

Кесте 13 - A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятында табылған ҚТВ сүтқоректілерге бейімделуімен байланысты молекулалық маркерлер

Белок	Амин қышқылы			A/220/20	Фенотип
	Орны	Құсқа ұқсас мотив	Сүтқоректілерге ұқсас мотив		
1	2	3	4	5	6
PB2	504	I	V	V	Тышқандарда вируленттілігі артқан [152]
	588	A	V	V	Сүтқоректілер мен құс клеткалар линиясында полимеразалық белсенділік пен репликацияны арттырады, тышқандардағы вируленттілігі жоғары [144]
	627	E	V	V	Сүтқоректілер клеткасында полимеразалық белсенділік пен репликацияны арттырады, тышқандардағы вируленттілігі жоғары [143, 153]
	89, 309, 339, 477, 495, 627, 676	89	L	V	Тышқандарда полимераза белсенділігі жоғары және вируленттілігі артқан [144]
		309	G	D	
		339	T	K	
		477	R	G	
		495	I	V	
		627	E	V	
		676	A	T	
PB1	3	D	V	V	Сүтқоректілер клеткасында полимераза белсенділігі жоғары [153]
	13	L	P	P	Сүтқоректілер түрінде вируленттілігі артқан [155]

13-кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6
PB1	622	D	G	G	Сүтқоректілер клеткалар линиясында полимеразалық белсенділігі жоғары және репликация артқан, тышқандардағы вируленттілігі жоғары [157]
	368	I	V	V	ҚТВ жаңа түрге бейімделуінде маңызды рөл атқарады [155]
PA	63	V	I	I	Сүтқоректілер клеткалар линиясында полимеразалық белсенділігі жоғары және репликация артқан, тышқандардағы вируленттілігі жоғары [144, 158]
	356	K	R	R	
	383	N	D	D	Сүтқоректілер мен құс клеткаларда полимеразалық белсенділігі жоғары [156]
	436			E	ҚТВ жаңа түрге бейімделуінде маңызды рөл атқарады [143]
HA	159	S	N	N	Вирустың $\alpha 2$ -6SA байланысуы жоғары [163]
	198	N	T	T	Күзенде репликация және жұғуы артқан [165]
NP	136			L	ҚТВ жаңа түрге бейімделуінде маңызды [139]
M1	30	N	D	D	Тышқандарда вируленттілігі артады [156]
	43	I	M	M	Тышқан, тауық пен үйректе вируленттілігі жоғары [161]
	215	T	A	A	Тышқандарда вируленттілігі артады [159]
NS	42	P	S	S	Тышқандарда вируленттілігі артады [160]
	138	C	F	F	Сүтқоректілер клеткасында репликация жоғары, интерферонның тануы төмен [162]
	149	V	A	A	Вируленттілігі жоғары, интерферонның тануы төмен [163]

Ескерту: А, аланин; С, цистеин; D, аспарагин қышқылы; Е, глутамин қышқылы; F, фенилаланин; G, глицин; I, изолейцин; K, лизин; L, лейцин; M, метионин; N, аспарагин; P, пролин; Q, глутамин; R, аргинин; S, серин; T, треонин; V, валин.

Сондай-ақ NP белогында анықталған жалғыз мутация 136L ҚТВ басқа жаңа түрлерге бейімделіп, жұқтыру қабілетінің пайда болуына әсері бар [143]. НА белогында табылған S159N мутациясы вирустың қожайын клеткасының рецепторымен байланысуын жоғарлатады [164], ал N198Т жағдайындағы амин қышқылының ауысуы ҚТВ күзен ағзасында репликациялануы мен өзара жұғуы арттыратындығы белгілі [165].

Азияда адам өліміне әкелген ҚТВ H5, H7 және H10 типтармақтарының геномында H9N2 сегменті болғандығы белгілі болды [166]. H9 типтармағы құстар, сүтқоректілер мен адамдарға жұғатыны анық және әр түрлі қожайындарға жұғатын изоляттар арасындағы реассортация пандемиялық потенциалы бар вирустарға түрлендіре алады. A/Chicken/Almaty/220/20 геномынан табылған молекулалық маркерлер сүтқоректілер түріне болжалды бейімделуі мен вируленттілігін арттыратындығы бұл типтармақтың жаңа қожайынға жоғары бейімделгіштігінің дәлелі бола алады.

3.9 H5 вирустарының ішкі белоктарын филогенетикалық талдау және молекулалық сипаттау

Адамдарда НА немесе NA пандемиялық штамдарының пайда болуы адам мен құс вирустарының арасындағы генетикалық реассортациямен байланысты және шошқа тұмауы бірінші екі қожайыннан туындайтын жеке вирустар арасындағы реассортантты түзуде маңызды рөл атқаратындығы турады болжам айтылған болатын. ҚТВ беттік екі маңызды белоктары егжей-тегжейлі зерттелінгенімен, олардың ішкі алты гені эволюциялық тұрғыдан талдануы жеткіліксіз болуда. Бұл зерттеуде жұмыста қолданылған үш H5 вирустарының – A/Chicken/North Kazakhstan/184/20, A/Caspian tern/Atyrau/9184/22 және A/Mute swan/Mangystau/9421/22 ішкі гендері талданды.

ҚТВ вируленттілігі мен зардаптылығы бірнеше вирустық белоктармен анықталады, бірінші кезекте вирустың клетка рецепторымен байланысып, вирус қабығының клетканың эндосомальді мембранасымен бірігуіне қажетті НА. Сонымен қатар, тұмаудың зардаптылығына вирустық полимеразалық кешен компоненттері, яғни PB2, PB1 мен PA полимеразалары әсер етеді [155, 167]. A/9184/2022 мен A/9421/2022 штамдарының PB2 генін Шығыс Еуропа вирустарына жақын болды, ал A/184/2020 изолятының бұл гені Шығыс Азия елдерінен бөлінген ҚТВ жақындығын көрсетті. PB2 белогында H5N1 вирусының сүтқоректілерде зардаптылығымен байланысты бірнеше мутация болады. Алайда бұл штамнан тек ғана адамның тұмау вирусында тіркелген A674T мутациясы табылды [165]. PB2 генінде E627K және D701N амин қышқылдарының ауысуы вирустың сүтқоректілерге вируленттілігін арттыратындығы белгілі [169-172]. Бірақ зерттелініп отырған штамдарда бұл мутациялар табылмағанымен, A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 изолятында тізбектегі 627 амин қышқылының орнына жақын жерден осыған дейін басқа мақалаларда жарияланбаған жаңа екі мутация A623T мен S629C анықталды.

PB1 мен PA полимеразаларындағы амин қышқылдарының мутациясы H5N1 вирусының тышқандармен қатар әр түрлі қожайындарға вируленттілігі мен бейімделуіне айтарлықтай әсер етуі мүмкін [169-172]. Зерттеулер көрсеткендей,

PB1 белогындағы L13P мен PA геніндегі N615K/R сияқты арнайы амин қышқылдарының ауысуы H5N1 вирустарының сүтқоректілерде вируленттілігінің арттыруы мүмкін [173]. Сонымен бірге PB1 мен PA геніндегі, сәйкесіше H436Y және A515T мутациялары жабайы үйректе H5N1 вирусының жоғары зардаптылығымен байланысты болатындығы анықталды [174]. Осы төрт амин қышқылының қалдығы да зерттелініп отырған үш вирустан да табылды.

Зерттелініп отырған үш H5 вирусынан да табылған V3D мен L473V мутациясы вирустың сүтқоректілер клеткасында полимеразалық белсенділігінің жоғарылауы мен өсуіне ықпал етеді [175, 176]. V3D амин қышқылы қалдығы тұрақтылығы жоғары полимеразалық кешен құра отырып, полимеразалық кешеннің құрылымы мен түзілу энергетикасын өзгертеді [164]. A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 изолятында табылған A374T мутациясы адамның тұмау вирусынан да табылған [177]. PB1-F2 геніндегі амин қышқылының L82S өзгеруі сүтқоректі қожайынында ҚТВ репликациясын арттырады, сондай-ақ белокқа тұрақтандырушы әсері бар (14-кесте) [178].

A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 изолятының полимеразалық гендерінде адамдар клеткасына бейімделе алатын және бұған дейін басқа әдебиет көздерінде сипатталмаған жаңа мутациялар табылды. PB1 геніндегі D619N амин қышқылдарының ауысуы ҚТВ адам клеткасындағы полимеразалық белсенділігін арттыратындығы көрсетілді [179]. Бұл мутация тек каспий қырқылдағынан ғана табылды. Сонымен қатар, PA белогындағы I61T амин қышқылының ауысуы А типті ҚТВ адам клеткасында өсуін арттырып, бейімделуіне ықпал етуі мүмкін [144], ал осы гендегі K237E мутациясы полимеразаның белсенділігін орташа арттыратындығы анықталынған [180] екі мутация да осы штамнан табылған. Полимераза гендерінде осы уақытқа дейін тіркелмеген бірнеше амин қышқылы қалдықтарының ішкі гендерде ауысуы анықталынды, олар PB2 (A623T және S629C) мен PB1 (R465G) гендеріндегі мутациялар.

Каспий қырқылдағынан бөлініп алынған ЖЗҚТ NP гені шағала мен басқа да су құстарында тіркелген еуразиялық төмен және жоғары зардапты тұмау вирустарының генімен бірдей болды. Ал сыбырлақ аққудан бөлініп алынған осы ген ресейлік ҚТВ жақын болды. Ал үй құсынан бөлініп алынған изоляттың NP белогы Қытай мен Жапониядан анықталған вирустарға туыстық жақындықты көрсетті. Зерттелініп отырған H5 вирустарының NP генінен сүтқоректілерге бейімделуімен байланысты M105V мен K398Q молекулалық маркерлері тіркелді (14-кесте). Біріншісі тек үй құсы мен аққудан бөлініп алынған изоляттарда табылған, вирустың вируленттілігі мен репликациясын арттыруға ықпал ететіні болжанған [178]. Ал екіншісі вирустың сүтқоректілерге бейімделуі мен вируленттілігін арттыруы мүмкін мутация үш штамнан да табылды [179].

Кесте 14 - A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020, A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 және A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 штамдарында табылған ҚТВ сүтқоректілерге бейімделуімен байланысты молекулалық маркерлер

Белок	Амин қышқылы			Ck/North KZ/184/20	Ct/Atyrau /9184/22	Ms/Mangystau /9421/22	Фенотип
	Орны	Құсқа ұқсас мотив	Сүтқоректі- лерге ұқсас мотив				
1	2	3	4	5	6	7	8
PB1	3	D	V	V	V	V	Сүтқоректілерде полимераза белсенділігі жоғарлаған [171]
	13	L	P	P	P	P	Сүтқоректілерде вируленттілігін арттырады [169]
	374	A	T	T	A	A	Адамның тұмау вирусынан табылған [173]
	473	L	V	V	V	V	Сүтқоректілерде полимераза белсенділігі жоғарлаған [172]
	619	D	N	D	N	D	Адам клеткаларында полимеразалық белсенділікті арттырады [179]
PB1-F2	82	L	S	S	S	L	Сүтқоректілерде вирус репликациясын арттырады [174]
PA	61	I	T	I	T	I	Адам клеткасында өсуі мен бейімделуін арттырады [139]
	237	K	E	E	E	K	Полимераза белсендігі артады [180]
	615	N	K/R	R	K	K	Сүтқоректілерде вируленттілігін арттырады [169]
	712	A	T	T	T	T	Вирустың бейімделуі мен репликациясын жоғарлатады [176]

14-кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
NP	105	M	V	V	M	V	Вирустың вируленттілігі мен репликациясын арттырады [178]
	398	K	Q	Q	Q	Q	Сүтқоректілерге бейімделуі мен вируленттілігін арттырады [179]
M1	30	N	D	D	D	D	Тышқандарға зардаптылығы жоғары [128]
	43	I	M	M	M	M	Сүтқоректілер мен құстарға зардаптылығы жоғары [181]
	215	T	A	A	A	A	Вирустың вируленттілігі мен репликациясын арттырады [182]
NS	42	P	S	S	S	S	Сүтқоректілерге бейімделуі мен вируленттілігін арттырады [179, 183]
	55	K	E	E	E	E	Қожайын клеткасындағы интерферон реакциясын басады [162]
	66	K	E	K	E	E	
	106	I	M	M	M	M	H5 вирустарының қожайынға бейімделуіне ықпал етеді [185]
	138	C	F	F	F	F	Тышқандарда вируленттілігі жоғары болуы ықтимал [186]
	149	V	A	A	A	A	Сүтқоректілерде вируленттілігі жоғары [184]

Ескерту: А, аланин; С, цистеин; D, аспарагин қышқылы; Е, глутамин қышқылы; F, фенилаланин; I, изолейцин; K, лизин; L, лейцин; M, метионин; N, аспарагин; P, пролин; Q, глутамин; R, аргинин; S, серин; T, треонин; V, валин.

A/Caspian tern/Atyrau/9184/22 мен A/Chicken/North Kazakhstan/184/20 изоляттарының М гені 2020-2022 жылдары Жапония, Ресей мен Қытайдан табылған H5N1 вирустарына, ал A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 штамы Шығыс Еуропада тіркелген вирустарға жақын болды. Жалпылама айтқанда зерттелініп отырған вирустардың матрицалық гені Еуропа, Азия мен Африкада жабайы құстар арасында тіркелген H5N1 тығыз байланысты болды. Зерттелінген изоляттардың М белогынан осыған дейін белгілі болған сүтқоректілерге бейімделуімен байланысты M30D, I43M мен T215A орындарындағы амин қышқылының ауысуына негізделген молекулалық маркерлері тіркелді (14-кесте).

M30D мутациясының тышқандарға зардаптылығы жоғары болатындығы лабораториялық зерттеуде дәлелденген [126]. М генінің 43 орнындағы изолейциннің метионинге ауысқан жағдайда сүтқоректілер мен құстарға вируленттілігі жоғары болуы ықтимал [181]. М генінде T215A мутациясы бар вирустың тышқанға вируленттігі жоғары болғандығы анықталған [182].

Зерттеудегі жабайы құстардан бөлініп алынған вирустардың NS1 гені H5N1 типтармағына жатпайтын еуразиялық вирустармен тығыз байланысты болды және әр түрлі амин қышқылдарының ауысуынан туған мутациялар көптеп кездесті, ол ТЗҚТ реассортациясы жолымен пайда болған штамм болуы әбден мүмкін. Ал үй құсынан бөлініп алынған H5N8 вирусының NS1 гені Қытайда 2020-2021 жылдары тіркелген изоляттарға туыстық жағынан жақындығы жоғары болғандығы, вирус мүмкін сол аймақ арқылы біздің елген тарау ықтималдылығын көрсетеді.

Зерттелініп отырған H5 вирустарының барлық гендерінің ішінде NS генінде сүтқоректілерге бейімделуімен байланысты молекулалық маркерлер өте көп болды. Бұл белоктағы белгілі мутациялар – P42S, K55E, K66E, I106M, C138F және V149A (14-кесте). Зерттеуде қолданған үш вируста да кездескен P42S және V149A мутациялары шошқа, тышқан мен үй тауықтарында H5N1 вирустарының вируленттілігін арттыруы мүмкін екендігін көрсетті [181, 182]. NS белогындағы K55E пен K66E мутациялары қожайын клеткасындағы интерферонның әсерін басатыны белгілі болған [162]. K66E мутациясы A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 штамынан табылмады. NS гені тізбегіндегі 106 орындағы изолейциннің метионинге өзгеруі H5 вирустарының қожайынға бейімделуіне ықпал етуі мүмкін [185]. Ал C138F мутациясы бар вирустардың тышқанда вируленттігі жоғары болуы ықтимал [186].

Айта кететін жайт, A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 вирусының NS1 генінде бұған дейін ешқандай әдебиет көздерінде жарияланбаған мутациялар – T80I, D173N және P212S табылды. Сондай-ақ осы изоляттан табылған арнайы L27M мутациясы көптеген еуропалық елдерде шағалалар арасында тараған ҚТВ табылған болатын.

Зерттелініп отырған H5Nx вирустарының ішкі гендерінен табылған, осы уақытқа дейін сипатталып, зерттелінген мутациялар олардың сүтқоректілер клеткасына бейімделуіне ықпал ететін молекулалық маркерлердің көптеп табылуы бұл вирустардың егжей-тегжейлі мониторингін жүргізіп отыруы қажеттілігін көрсетеді. Өйткені бұл ҚТВ үнемі даму және өзгеріс үстінде

болғандықтан, бақылаудың эволюциялық стратегияларын қолдана отырып, ауыл шаруашылығын қауіпсіз жүргізу әдістері мен жергілікті таралған штамдарға сай вакцина егуді жүргізу қажет. Осылайша, тұмаудың А типті вирусымен күресудің біріңғай стратегиясын жүзеге асыру үшін халықаралық әріптестікті ретке келтіру қажет.

3.10 Қазақстандық изоляттардағы жаңа нүктелік мутациялар мен ішкі гендерін салыстыру

Қазақстандық төрт изоляттың барлық гендерінің шығу тегі мен реассортациялану мүмкіндігін болжау мақсатында GenBank базасындағы вирустармен салыстыру жүргізілді (15-кесте) және олардың геномында бұған дейін тіркелмеген жаңа мутациялар анықталынды (16-кесте).

Кесте 15 – Зерттелінген штамдардың геномының басқа вирустармен ұқсастығы

Блок	Зерттелінген вирус	Референтті вирус	Тип-тармағы	Ұқсастық, %
PB2	A/184/20	A/Goose/Hebei/HG12/21	H5N8	99,6
	A/9184/22	A/Chicken/Ehime/TU11-2-24,25/22	H5N1	98,7
	A/9421/22	A/Swan/Rostov/2299-2/20	H5N5	98,2
	A/220/20	A/Mink/China/chick embryo/20	H9N2	98,4
PB1	A/184/20	A/Cygnus columbianus/Hubei/50/20	H5N8	99,5
	A/9184/22	A/Duck/Bangladesh/44407/20	H6N1	98,8
	A/9421/22	A/Environment/Bangladesh/52160/22	H10N4	97,5
	A/220/20	A/Chicken/Shandong/01.26_TAWL009/19	H9N2	98,3
PA	A/184/20	A/Chicken/Nigeria/VRD21-53B_21/21	H5N8	99,7
	A/9184/22	A/Chicken/Nigeria/VRD21-109_21/21	H5N1	98,4
	A/9421/22	A/Dduck/Bangladesh/33676/17	H4N6	97,4
	A/220/20	A/Athene noctua/Tianjin/Y14/17	H9N2	97,8
HA	A/184/20	A/Chicken/Kazakhstan/23/20	H5N8	99,6
	A/9184/22	A/Pelican/Tumen/932-1/21	H5N1	99,4
	A/9421/22	A/Duck/Bangladesh/51601/21	H5N1	98,9
	A/220/20	A/Chicken/China/2038/20	H9N2	98,2
NP	A/184/20	A/Chicken/Nigeria/VRD21-53B_21/21	H5N8	99,4
	A/9184/22	A/Common buzzard/Kyoto/2601B013/22	H5N1	98,8
	A/9421/22	A/Pelican/Tumen/1032-1/21	H5N1	99,2
	A/220/20	A/Chicken/China/71/19	H9N2	98,8
NA	A/184/20	A/Cygnus columbianus/Hubei/50/20	H5N8	99,3
	A/9184/22	A/Goose/Chelyabinsk/1341-3/21	H5N1	99,3
	A/9421/22	A/Duck/Bangladesh/51601/21	H5N1	98,9
	A/220/20	A/Chicken/Shandong/217/17	H9N2	98,4
M	A/184/20	A/Dalmatian pelican/Astrakhan/417-1/21	H5N5	99,4
	A/9184/22	A/Crow/Fukuoka/TU48-37/22	H5N1	99,2
	A/9421/22	A/Mule-duck/France/21347/21	H5N1	99,9
	A/220/20	A/Chicken/Hunan/10.27_YYGK48B4/18	H9N2	99,2
NS	A/184/20	A/Cygnus columbianus/Hubei/50/20	H5N8	99,8
	A/9184/22	A/Wild duck/South Korea/KNU2018-26/20	H1N1	98,8
	A/9421/22	A/Teal/Egypt/MB-D-698OP/16	H7N3	98,6
	A/220/20	A/Chicken/Vietnam/HU9-506/18	H9N2	99,4

Зерттелінген изоляттарды GenBank базасындағы вирустармен салыстырып, пайыздық ұқсастығы ең жоғары вирустар анықталынды. Нәтижесінде A/Caspiantern/Atyrau/9184/22 мен A/Mute swan/Mangystau/9421/22 изолятының кейбір ішкі гендері басқа типтармаққа жататын вирустарға туыстық жақындығы жоғары болғандығы анықталынды, яғни олар өзге типтармақтармен реассортациялануы арқылы түзілген болуы мүмкін (15-кесте). Әсіресе A/9421/22 изолятының төрт гені жоғары зардапты H5, H7 вирустарына және H4 пен H10 изоляттарына ұқсастығы өте жоғары болды.

Кесте 16 – Зерттелінген төрт изоляттың геномында табылған бұрын тіркелмеген жаңа нүктелік мутациялар

Белок	Амин қышқылының орны	Зерттелінген қазақстандық штаммдар			
		A/184/20	A/220/20	A/9184/22	A/9421/22
PB2	E65G, Q138L, T371A, A401G және A468T		+		
	M483T				+
	T491A пен A674T	+			
	A623T және S629C			+	
PB1	S80I, T110A, A142S, T226A, A374T пен S384P	+			
	I102D		+		
	M171I, R475G мен D619N			+	
	E178G және M372I				+
PA	E56G, R196S, S277F, N350K мен P534T		+		
	E101Q, I322V, H535P мен C541R				+
	S224A, I308T мен K626N	+			
HA	L51I, M187I, A373V және I422V		+		
	S100K	+			
NP	G356A мен M374I				+
M1	Q164L				+
M2	E8R		+		
NS1	I81D және P85S				+

Ескерту: А, аланин; С, цистеин; D, аспарагин қышқылы; Е, глутамин қышқылы; F, фенилаланин; I, изолейцин; K, лизин; L, лейцин; M, метионин; N, аспарагин; P, пролин; Q, глутамин; R, аргинин; S, серин; T, треонин; V, валин

Зерттелінген қазақстандық штаммдарды молекулалық талдау кезінде барлық изоляттардың геномынан бұған дейін тіркелмеген амин қышқылының ауысуы - нүктелік мутациялар табылды (16-кесте). Нүктелік мутациялар барлық дерлік белок құрылымынан анықталынды. Бұл нүктелік мутациялар изоляттардың зардаптылығы мен қызметіне қалай әсер ететіндігі белгісіз болғандықтан, вирустарды әрі қарай егжей-тегжейлі зерттеулер қажеттілік тудырады.

Айта кететін жайт, геномы толық секвенирленген А/9184/22 изолятына «Биологиялық қауіпсіздік мәселелері ғылыми-зерттеу институтынан» төлқұжат алынды және «Диагностикалық препараттар мен вакцина дайындау үшін пайдаланылатын 2.3.4.4b генотипіне жататын А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1) құс тұмау вирусының штамы» атауымен пайдалы модельге патент (қосымша Ә) пен №110552 нөмірлі авторлық құқық (қосымша Б) алынды.

Зерттелген жоғары зардапты А/9184/22 пен А/9421/22 изоляттарының ішкі белоктары басқа типтармақтағы вирустарға ұқсастығының жоғары болуы, олардың реассортант вирус болуы ықтимал екендігін білдірді.

Вирус белогының амин қышқылдық тізбегінің өзгеруіне әкеліп соғатын нуклеотид тізбегіндегі кездейсоқ мутациялар көп жағдайда белок қызметі мен құрлымының өзгеруін тудырмайды. Бірақ олар кейде вирусқа бірқатар эволюциялық артықшылықтар беруі мүмкін, мысалы, басқа қожайын клеткасындағы рецептормен байланысуын арттырып, түр аралық барьерден өтуі әбден ықтимал. Сондықтан бұл мутациялардың белок қызметіне қалай әсер ететіндігін әрі қарай тереңірек зерттеуді талап етеді.

3.11 Құс тұмауын дифференциалды диагностикалауға арналған тест-жүйені жасап шығару

Тест-жүйелерді әзірлеу бойынша көптеген жарияланымдар бар, дегенмен ҚТВ геномының өзгергіштігі, мутацияға бейімділігі зертханалық талдау кезінде күрделі мәселелер туғызады, бұл сынақтың сезімталдығы мен спецификасы төмен болғандықтан жалған-теріс нәтижелерге әкеп соғады. Осыған байланысты құс тұмауын жедел талдаудың ПТР-тест жүйелері сияқты отандық тиімді әдістерін әзірлеу өте маңызды.

Нақты уақыттағы КТ-ПТР – тұмау түрлері мен қосалқы түрлерін ажыратуға көмектесетін сезімтал және ерекше тест-жүйе. Практикалық қолдану саласына кең енуі классикалық ПТР салыстырғанда бірнеше артықшылығының болуына негізделген, олардың ішіндегі бастысы ДНҚ мен РНҚ тізбегіне сандық талдау жүргізу мүмкіндігі болып табылады. Нақты уақыттағы ПТР электрофорез сатысы орындамауға мүмкіндік бере отырып, процестің жалпы ұзақтығын азайтады және контаминация қатерін қысқартады.

Бұл тест-жүйені қолдану арқылы сараптауды жылдам жүргізуге және зерттеу нәтижесін секвенирлерді пайдаланбай-ақ ЖЗҚТ H5N8 штамын анықтауға мүмкіндік береді.

Осылайша, елге инфекцияның таралуына жол бермеу үшін ветеринариялық-санитариялық және арнайы ветеринариялық іс-шаралар кешенін одан әрі күшейтуге аса қажетті бірден бір экспресс әдіс болып табылады.

Осы мақсатта тұмаудың А типті вирусы H5N8 типтармағын нақты уақыттағы КТ-ПТР әдісімен анықтауға арналған праймерлерді таңдауға негіз болған осы жұмыста геномы толық секвенирленген A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) изоляты болды. Бұл изолят GenBank мәліметтер базасында сақтауға берілген (OP740951.1 – OP740959.1) изоляттар гендерінің Fasta файлдағы нуклеотидтік тізбегі Г қосымшасында көрсетілген. A/184/20 изолятының нейраминидаза мен гемагглютинин гендерінің тізбегін қолданып праймерлер таңдалды және «Ұлттық биотехнология орталығының» органикалық синтез зертханасында синтезделді.

Қазақстандық H5N8 штамы геномының консервативті бөлігінен праймер таңдалды. Праймерді құрастыру мен таңдау Primer-BLAST компьютерлік бағдарламасының көмегімен келесі көрсеткіштерге сәйкес жүргізілді:

- праймерлердің ұзындығы 18-20 жұп нуклеотидтік негіз;
- G+C жұбының пайыздық құрамы – 40-60;
- праймерлердің өз-өздеріне жабысуы мен димерлер түзуін болдырмау;
- балку температурасы +55-58°C.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде әрі қарай сынау үшін праймерлер таңдалды (17-кесте). Температура-уақыттық тәртібі мен реакциялық құрамын праймерлер мен фермент сипаттамасына тіркелген аннотацияға сай таңдалды. Таңдалған праймерлер “Ұлттық биотехнология орталығы” ЖШС синтезделді.

Кесте 17 – ҚТВ H5N8 типтармағының НА және NA гендерін нақты уақыттағы КТ-ПТР анықтауға арналып құрастырылған праймерлердің сипаттамасы

№	Аталуы	Бағыты	Нуклеотидтік тізбегі (5' → 3')	Болжалды өнім
1	Primer-FLU-H5	Тура	AAT GGG ACG TAT GAC TAC 1495-1512	142 ж.н.
		Кері	TTG CCA GTG YTA GGG AAC 1573-1587	
		Зонд	FAM-CAA TAG GAA CTT AC-MGB 1619–1636	
2	Primer-FLU-N8	Тура	TGG GTC TTT CAC TTT ACC AG 1209-1228	173 ж.н.
		Кері	CTC CAT CGT GCC ATG ACC 1326-1338	
		Зонд	HEX-CAT TGT RAT GTG TG-MGB 1364-1381	

17-кестеде көрсетілгендей, ҚТВ H5N8 типтармағын анықтау үшін НА және НА гендеріне праймерлердің екі жиынтығы таңдалды, олар сәйкесінше ұзындығы 142 және 173 ж.н ПТР өнімін амплификациялайды.

29 және 30-суреттерде A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) изолятының НА және НА генінің нуклеотидтік тізбегін теңестіргеннен кейінгі консенсусты тізбегі көрсетілген. Суретте тура және кері праймерлердің НА мен НА генінде орналасуы қара түспен, ал зонд сұр түспен боялған.

```
ATGGAGAACATAGTACTTCTTCTTGCAATAGTTAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACC
ATGCAAAACAATTTCGACAGAGCAAGTTGACACGATAATGGAAAAGAACGTCAGTTACACATGCCCAAGA
CATACTGGAAAAAACACACAACGGGAAGCTCTGTGATCTAAATGGGGTGAAGCCTCTGATTTTAAAGGAT
TGTAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGCGACGAATTCATCAGAGTGCCGGAATGGTCCT
ACATAGTGGAGAGGGCTAAACCAGCTAATGACCTCTGTTACCCAGGGAGCCTCAATGACTATGAAGAACT
GAAACACCTGTTGAGCAGAATAAATCATTTTGAAGAAGATTCTGATCATCCCCAAGAGTTCCCTGGTCCAAT
CATGAAACATCACTAGGGGTGAGCGCAGCTTGTCCATACCAGGGAGCGCCCTCCTTTTTTCAGAAATGTGG
TGTGGCTTATCAAAAAGAACGATGCATACCCAACAATAAAGATAAGCTACAATAATACCAATCGGGAAGA
TCTCTTGATACTGTGGGGGATTTCATCATTTCCAACAATGCAGAAGAGCAGACAAATCTCTATAAAAACCCA
ACCACCTACATTTTCAGTTGGAACATCAACTTTAAACCAGAGGTTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCC
AAGTAAACGGGCAACGTGGAAGAATGGACTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGGATGATGCAATCCATTT
CGAGAGTAATGGAAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAAATTTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATT
ATGAAAAGTGGAGTGGAATATGGCCACTGCAACACCAAATGTCAAACCCAGTAGGAGCGATAAATTCTA
GTATGCCATTCACACAACATACATCCTCTCACCATTGGGGAATGTCCCAAATACGTGAAGTCAAACAAGTT
GGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCTAAGAGAAAAGAGAAGAAAAGAGGCCTGTTTGGGGCG
ATAGCAGGGTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTTGATGGTTGGTATGGGTACCACCATAGCAATG
AGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACCCAAAAGGCAATAGATGGAGTTACCAATAAGGT
CAACTCAATCATTGACAAAATGAACACTCAATTTGAGGCAGTTGGAAGGGAGTTTAATAACTTAGAAAGG
AGGATAGAGAATTTGAACAAGAAAATGGAAGACGGATTCTTAGATGTCTGGACCTATAATGCTGAACTTC
TAGTTCTCATGGAAAACGAGAGGACTCTAGATTTCCATGATTCTGAATGTCAAGAACCTTTACGACAAAGT
CAGACTGCAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGCTGTTTCTGAATTCTATCACAATGCGAT
AATGAATGTATGGAAAGTGTGAGAAATGGGACGTATGACTACCCTCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAA
AAAGAGAAGAAATAAGCGGAGTGAATTTAGAATCAATAGGAACTTACCAGATACTGTCAATTTATTCAAC
AGCGGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCTTTATGGATGTGCTCCAATGGGTCTG
TTACAGTGCAGAATTTGCATTTAAATTTGTGA
```

Сурет 29 – ҚТВ A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) штамның
НА генінің консенсусты тізбегі

ATGAATCCAAATCAGAAAATAGCGACCATTGGCTCCATCTCATTGGGACTAGTTGTATTCAATGTTCTAC
TGCATGCCTTGAGCATCATATTAATGGTGTAGCCCTGGGGAAAAGTGAAAACAATGGAATCTGCAAGGG
AACTATAGTAAGGGAATATAATGAAACAGTTAGAATAGAGAAAAGTGACCCAGTGGTACAACACTAGTGTA
GTTGAATATGTACCGCATTTGGAACGAGGGCGCTTATATAAACACACCGAACCAATATGTGATGTCAAGG
GCTTTGCACCTTTTTTCCAAGGACAACGGAATAAGAATTGGCTCCAGAGGACATATTTTTGTGATAAGGGA
GCCTTTTCGTCTCTTGTTCACCTGTAGAGTGCAGAACTTTCTTCCCTCACTCAGGGAGCTCTACTCAATGAC
AAACACTCAAATGGAACAGTGAAGGATAGGAGCCCATTCAGAACTCTCATGAGTGTGGAAGTGGGTCAAT
CACCCAATGTGTATCAAGCAAGGTTTGAAGCTGTAGCATGGTCAGCAACAGCCTGTGATGATGGTAAGAA
ATGGATGACGATTGGTGTGACAGGGCCAGATTTCGAAAGCAATAGCAGTAGTCCATTACGGAGGAGTGCCT
ACTGATATTGTTAACTCCTGGGCAGGAGACATATTACGGACTCAGGAGTCATCTTGTACTTGCATTCAAG
GTAATTGTTATTGGGTAAATGACTGACGGTCCATCCAATAGACAGGCGCAGTATAGAATTTACAAAGCAAA
TCAAGGCAAAATAATTGACCAAGCAGACGTCAGCTTTAGTGGAGGGCATATTGAGGAATGCTCTTGTAT
CCAAATGATGGTAAAGTGAATGCGTGTGTAGAGACAACCTGGATGGGAACATAACAGGCCTGTGCTAGTTA
TCTCGCCTGACCTCTCTTACAGGGTTGGGTATTTATGTGCGGGGTGCCAGTGACACTCCAAGAGGGGA
AGATGCCCCAATTTGTGCGTTCGTGCACTAGTCCCATGGGAAATCAGGGGTATGGCGTAAAAGGTTTCCGG
TTTCGACAGGGAACCTGATGTGTGGATGGGGCGGACAATTAGTCGAACCTCCAGGTCAGGGTTTGAATAA
TAAGGATAAAGAATGGTTGGACGCAGACAAGCAAAGAACAGATTAGAAGGCAGGTGGTTGTTGATAATTT
GAATTGGTCGGGATACAGTGGGTCTTTCACTTTACCAGTAGAATTGTCTGGGAGGGAATGTTTAGTCCCC
TGTTTTTGGGTGCGAAATGATCAGAGGCAGGCCAGAAAGAAACAATCTGGACCTCTAGTAGCTCCATTG
TAATGTGTGAGTTGATCATGAAATTGCCGATTGGTCATGGCACGATGGAGCTATTCTTCCCTTTAACAT
CGATGGGATGTAATTTACGGAAAAAACTCCTTGTCTTCTACT

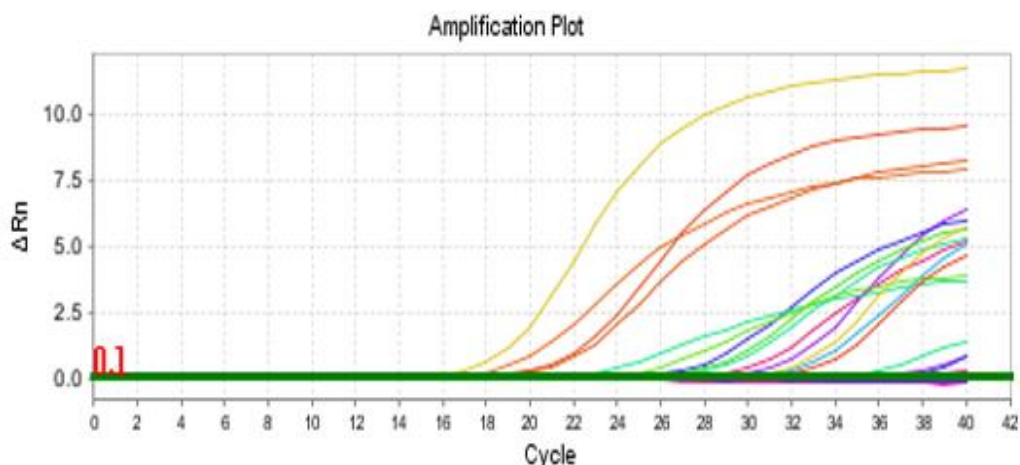
Сурет 30 – ҚТВ A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) штамының НА генінің консенсусты тізбегі

ҚТВ H5N8 типтармағын нақты анықтауға арналған олигонуклеотидтердің арнайылығын тексеру үшін әр түрлі типтармақтарға және Ньюкасл вирусына (NDV) жататын штамм таңдалынды (18-кесте). H5N8 вирусы ретінде 2020 жылы Қазақстанда тіркелген құс тұмауы ауруы таралған уақытта бөлініп алынған изоляттар, атап айтқанда осы жұмыста зерттелген A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 штамы да қолданылды.

Нақты уақыттағы КТ-ПТР өту жағдайларын оптимизациялау үшін бірқатар тәжірибелер жүргізіліп, оның нәтижесінде таңдалған праймерлермен ПТР жүргізудің оңтайлы нұсқасы анықталды. тәжірибе негізінде праймерлердің дәнекерленуі және элонгация уақыты таңдалды. Амплификацияның температура-уақыттық тәртібі келесі бағдарламаға сай жүргізілді:

кері транскрипция 50°C – 30 мин,
бастапқы денатурация 95°C – 15 мин
амплификация 40 цикл:
денатурация 95°C – 10 сек
праймерлер дәнекерленуі 60°C – 20 сек
элонгация - 72°C – 15 сек.

Вирустық РНҚ амплификациялауға арналған реакциялық қоспаға (V=20 мкл) келесі компоненттер таңдалды: Тақ ДНҚ полимераза – 0,25 мкл (2,5 бірлік/мкл); 2x ПТР-буфер – 12,5 мкл; праймерлер (10 пМ) тура мен кері праймер – әрқайсысы 1 мкл, зонд – 0,5 мкл; Rox Ref. - 5 мкл; РНҚ – 5 мкл. Деиондалған су – 3,25 мкл. Ал ПТР өнімінің ұзындығы НА гені үшін 142 ж.н., ал NA гені үшін 173 ж.н. Амплификация Real Time 7500, Applied Biosystems (АҚШ) амплификаторында жүргізілді.



Сурет 31 - ҚТВ Н5 және N8 арналған олигонуклеотидтердің (праймерлер мен зондтар) арнайылығын нақты уақыттағы КТ-ПТР тексеру

Кестеде көрініп тұрғандай Н5 және N8 типтармағына жататын вирустардың $Ct < 30$ болғандығы оң нәтиже көрсетіп, олигонуклеотидтердің тізбегі, оларға таңдалған температура-уақыттың тәртіп пен реакциялық қоспаның құрамы сәтті болғандығын көрсетеді (18-кесте, 31-сурет).

Кесте 18 - ҚТВ Н5 және N8 арналған олигонуклеотидтердің (праймерлер мен зондтар) арнайылығын нақты уақыттағы КТ-ПТР тексеру нәтижесі

Антигендік формуласы	Вирус атауы	Ct H5	Ct N8
H5N8	A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020	18.40	18.54
H5N8	A/domestic_goose/Kazakhstan/1-248_2-20-B/2020	22.65	23.41
H9N9	A/Knot/Eng/SV497/02	Ct жоқ	Ct жоқ
H7N7	A/Turk/Eng/647/77	Ct жоқ	Ct жоқ
H7N1	A/Afr.Star/Eng/983/79	Ct жоқ	Ct жоқ
H5N5	A/Mute Swan/Croatia/102/16	30.81	Ct жоқ
H5N3	A/Teal/Eng/7394-2805/06	29.84	Ct жоқ
H5N8	A/Dk/Eng/036254/14	28.62	26.38
H5N1	A/Ck/Scot/59	36.14	Ct жоқ
NDV	APMV-1/chicken/Almaty/55//2000	Ct жоқ	Ct жоқ

Ескерту: «Ct жоқ» реакцияның теріс нәтижесі

Осылайша, жүргізілген жұмыс нәтижесінде ҚТВ Н5 және N8 типтармағын амплификациялауға арналған арнайы праймерлер таңдалды, құрылды және синтезделді, сондай-ақ ПТР жүргізу тәртібі оптимизацияланды. Таңдалған праймерлер жоғары сезімталдылық пен арнайылықты көрсетті.

Осы жұмыс нәтижесінде «Құс тұмауы вирусын анықтау және дифференциалдауға арналған реал тайм ПТР тест-жүйесін жасап шығару әдісі» атауымен пайдалы модельге патент алынды (Қосымша А).

ҚОРЫТЫНДЫ

Құс тұмауы үй құстарының миллиондап қырылуы мен адам өліміне себеп бола отырып, жыл сайын қаржылық шығынға ұшырататын, әдемдегі эпидемия мен эпизоотикалық ошақтардың негізгі көзінің бірі болып қалуда. Вирустың жоғары өзгергіштігі әсер ету ұзақтығы жоғары вакцинаны жасап шығаруды қиындатады. Жоғары өзгергіштік көзі жабайы құстардың популяциясымен ұсынылған кең ауқымды резервуар болып табылады. Құс тұмауының жаңа штамдарының жыл сайынғы мониторингі мен ЖЗҚТ ықтимал ошақтарын болжау жыл құстары ұшып өтетін аумақтарда маңызды болады [107].

Қорыта айтқанда, құстардың маусымдық қоныс аударуы ҚТВ популяциясының генетикалық құрылымының қалыптасуында маңызды рөл атқарады. Сондықтан да, жабайы құстар арасында құрлықтық масштабта ҚТВ таралуы қандай да бір деңгейде болжауға болады, ол Қазақстан Республикасында пайда болатын кез келген ЖЗҚТ болашақта таралуын бақылауға көмектесе алады [101]. Осылайша, ҚТВ жабайы құстар арасында құрлықтық масштабта таралуын қандай да бір деңгейде болжауға болады, ол ақырында Қазақстанда пайда болатын кез-келген жоғары зардапты құс тұмауы вирусының болашақта бізге таралуы ықтималдылығын бақылауға көмектесуі мүмкін.

1. Алматы, Шығыс Қазақстан, Ақмола, Батыс Қазақстан, СҚО мен Қостанай облысындағы өзіндік қосалқы шаруашылықтағы үй құстарына ҚТВ мониторинг жүргізу кезінде жинақталған 3286 қан сарысу сынамаларын ИФТ әдісімен серологиялық скрининг нәтижесінде 100 үлгі вирустың H5 антигеніне оң нәтиже көрсетті. Осы үлгілерге КТ-ПТР әдісімен молекулалық-биологиялық скрининг жүргізу нәтижесінде тек Ақмола облысынан жинақталған 5 үлгі М-геніне әлсіз оң нәтиже көрсетті.

2. ҚТВ жаппай тараған уақытта, 2020 және 2022 жылдары Алматы, СҚО, Маңғыстау мен Атырау облысы аумағынан жинақталған 105 сынаманы ҚТВ КТ-ПТР скрининг жүргізу нәтижесінде H5N8, H9N2 мен H5N1 типтармағының таралуы анықталынды.

3. ПТР оң нәтиже берген 10 үлгіні тауық эмбрионында өсіру арқылы төрт штамм бөлініп алынды: A/Chicken/Almaty/220/2020, A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020, A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 және A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022.

4. Филогенетикалық талдау нәтижесінде H5N8 изоляты - A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 және H5N1 - A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 мен A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 штамдарының HA генінің ажырау сайты - PLREKRRKR↓GLF тізбекті, жоғары зардапты 2.3.4.4.b генотипіне жататындығы анықталды. Ал A/Chicken/Almaty/220/2020 изолятының ажырау сайты - PSRSSR↓GLF зардаптылығы төмен 2018 жылы Ресей мен Қытайда тіркелген Y280-линиялы H9N2 вирустарына жақындығы белгілі болды.

5. A/Chicken/Almaty/220/2020 вирусының зардаптылығы төмен болғанымен, геномының барлық дерлік белоктары құрылымында оның сүтқоректілерге бейімделуін арттыратын бірнеше молекулалық маркерлер табылды. A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (OP740951.1 – OP740959.1) пен

A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (OQ804408.1 – OQ804415.1) ҚТВ толық геномының нуклеотидтік тізбегі GenBank және GISAID халықаралық ақпараттар базасында жарияланды.

6. СҚО Сергеевка ауылынан жинақталған сынамадан бөлініп алынған A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020(H5N8) изоляты нақты уақыттағы ПТР диагностикалық тест-жүйесін жасап шығаруға негіз болды.

Бұл диссертациялық жұмыста алға қойылған мақсат пен міндеттер толықтай орындалды. Қазақстанда соңғы жылдары таралған ҚТВ штамдарының геномы секвенирленді және оның филогенетикалық талдауы жасалынды. ҚТ штамдарының толық геномын зерттеу нәтижесінде алынған мәліметтер базаға қосылды. Осы жұмыста алынған нәтижелерді вирусология саласында монография жұмыстарын жазуға, ҚТВ Н5 пен Н9 штамдарына диагностикалық препараттар мен вакцина дайындауға, жоғарғы оқу орындарында сабаққа қолдануға болады. Зерттеу нәтижелерін ескере отырып, 2025-2026 жылдардағы құс тұмауының кезекті таралу мүмкіндігін болжауға болады.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Основные показатели развития животноводства в 2022 году https://new.stat.gov.kz/ru/news/osnovnye-pokazateli-razvitiya-zhivotnovodstva-v-2022-godu-/?sphrase_id=67075
2. Б.Т. Байкара, М.А. Садуакасова, А.С. Карабасова. Эпизоотологический мониторинг гриппа домашней птицы города Семей // Международной конференции студентов и молодых учёных «ФАРАБИ ӘЛЕМІ». - Алматы, - 2021. - 235 с.
3. Қазақстан туралы <https://amm.kz/kz/aza-stan-turaly>
4. Қазақстан Республикасы Экология және табиғи ресурстар министрлігі Орман шаруашылығы және жануарлар дүниесі комитеті <https://www.gov.kz/memleket/entities/forest/activities/3813?lang=kk>
5. Самодекларация Казахстана, как страны, свободной от высокопатогенного гриппа птиц. Астана, - 2018. - 6 с.
6. Buisch W.W. Foreign animal diseases – «The gray book». Electronic resource // W.W. Buisch, J.L. Hyde, Ch.A. Mebus - Pat Campbell & Associates and Carter Printing Company, Richmond. - Virginia, - 1998. - Access mode: <http://www.vet.uga.edu/vpp/graybook>
7. Sambrook J., Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual Text // Maniatis Cold Spring Harbor Press. - 2001.
8. Cauthen A.N., Swayne D.E., Cauthen S., Schultz Cherry M.L. Continued circulation in China of highly pathogenic avian influenza viruses encoding the hemagglutinin gene associated with the 1997 H5N1 outbreak in poultry and human // Journal of Virology. – 2007. <http://www.jvi.asm.org/cgi/content>
9. Cleaveland S., Laurenson K., Taylor L. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host rang and risk of emergence // Science. - 2008. - p. 31-38
10. Zuban I.A., Kassimov I.R., Zhadan K.S.. Informational and analytical system for monitoring migration of migratory birds in Northern Kazakhstan // Journal of Physics Conference Series. – 2020. - 1515(3):032075. DOI:10.1088/1742-6596/1515/3/032075
11. Сұлтанов А.А., Садуакасова М.А., Байқара Б.Т., Бегасыл К.С. Дүние жүзі және Қазақстан бойынша құс тұмауының қысқаша эпизоотиялық жағдайы, аурудың таралу жолдары. Вирустың өзгергіштігі // Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы. Ғылым және білім. «Қазіргі көзқарас жағдайындағы ғылым мен білімді дамытудың өзекті мәселелері» XXII халықаралық ғылыми-практикалық конференцияның материалдары 2022 жылдың 12 сәуірі. - 2022. - 352-359 б. №2 (67) 2022 журналға қосымша №1.
12. Hause B.M., Collin E.A., Liu R., Huang B., Sheng Z., Lu W., Wang D., Nelson E.A., Li F. Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine: Proposal for a new genus in the orthomyxoviridae family // mBio. - 2014. - p. 5

13. Gutierrez R.A., Sorn S., Nicholls J.M. and Buchy P. Eurasian Tree Sparrows, risk for H5N1 virus spread and human contamination through Buddhist ritual: an experimental approach // *PLoS One*. – 2011. – 6:e28609.
14. Байкара Б.Т., Садуакасова М.А., Карабасова А.С., Жусупбеков Ж.С., Султанов А.А.. Эпизоотологический мониторинг гриппа домашней птицы. Вестник КазНУ. Серия биологическая. -2021. - №3 (88). - С. 79-86. <https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.08>
15. Asha K., Kumar B. Emerging influenza D virus threat: what we know so far! // *J Clin Med*. – 2019. - 8:E192. 10.3390/jcm8020192
16. Njouom R., Monamele G.C., Ermetal B., Tchatchouang S., Moyo-Tetang S., McCauley J.W., et al. Detection of influenza C virus infection among hospitalized patients, Cameroon // *Emerg Infect Dis*. – 2019 – V. 25, P.607–609. 10.3201/eid2503.181213
17. World Health Organization Expert Committee A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO Memorandum. *Bull WHO*. – 1980. - V.58, - P. 585–591.
18. Fouchier R.A.M., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls // *J Virol*. – 2005. – V. 79, - P. 2814–2822. doi: 10.1128/JVI.79.5.2814-2822.2005.
19. Zhang W., Zhang L., He W., Zhang X., Wen B., Wang C., Xu Q., Li G., Zhou J., Veit M., et al. Genetic evolution and molecular selection of the he gene of influenza C virus // *Viruses*. – 2019. – V. 11, - P. 167.
20. Su S., Fu X., Li G., Kerlin F., Veit M. Novel influenza D virus: Epidemiology, pathology, evolution and biological characteristics // *Virulence*. – 2017. - Vol. 8, - P1580–1591.
21. Rosenthal P.B., Zhang X., Formanowski F., Fitz W., Wong C.H., Meier-Ewert H., Skehel J.J., Wiley D.C. Structure of the haemagglutinin-esterase-fusion glycoprotein of influenza C virus // *Nature*. – 1998. - Vol. 396, - P. 92–96.
22. Christian Sandrock, Terra Kelly (2007). Clinical review: Update of avian influenza A infections in humans // *Critical Care*. – 2007. – Vol. 11(2), P. 209–. doi:10.1186/cc5675
23. Antrobus R. D., Lillie P. J., Berthoud T. K., Spencer A. J., McLaren J. E., Ladell K., et al. A T cell-inducing influenza vaccine for the elderly: safety and immunogenicity of MVA-NP+M1 in adults aged over 50 years // *PLoS ONE*. – 2012. – P. 7:e48322. 10.1371/journal.pone.0048322.
24. Tao H., Li L., White M.C., Steel J., Lowen A.C. Influenza A Virus Coinfection through Transmission Can Support High Levels of Reassortment // *J. Virol*, 89. – 2015. – P. 8453–8461. doi: 10.1128/JVI.01162-15.
25. Vincent A., Awada L., Brown I., Chen H., Claes F., Dauphin G., Donis R., Culhane M., Hamilton K., Lewis N. Mumford E., Nguyen T., Parchariyanon S., Pasick J., Pavade G., Pereda A., Peiris M., Saito T., Swenson S., Van Reeth K., Webby R., Wong F., Ciacchi-Zanella J. Review of Influenza A Virus in Swine Worldwide: A Call for Increased Surveillance and Research // *Zoonoses and Public Health*. – 2014. – 61(1). – P. 4–17. doi:10.1111/zph.12049.

26. Rajao D.S., Vincent A.L., Perez D.R. Adaptation of Human Influenza Viruses to Swine // *Front. Vet. Sci.* – 2018. – 5:347. doi: 10.3389/fvets.2018.00347.
27. Jang J., Bae S.E. Comparative Co-Evolution Analysis Between the HA and NA Genes of Influenza A Virus // *Virol. (Auckl)*. – 2018. – 9. doi: 10.1177/1178122X18788328.
28. Kosik I., Yewdell J.W. Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase: Yin(-) Yang Proteins Coevolving to Thwart Immunity // *Viruses*. – 2019. – 11:346. doi: 10.3390/v11040346.
29. Furuse Y., Suzuki A., Kamigaki T., Oshitani H. Evolution of the M gene of the influenza A virus in different host species: large-scale sequence analysis // *Virology Journal*. – 2009. – 6(1), - P. 67–. doi:10.1186/1743-422x-6-67.
30. Mancera G.J.C., P. Douglas S., Masic A., Balasch M., Influenza A Virus in Swine: Epidemiology, Challenges and Vaccination Strategies // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2020. - Vol. 7. doi: 10.3389/fvets.2020.00647
31. Matrosovich M., Herrler G., Klenk H.D. Sialic acid receptors of viruses // *Top. Curr. Chem.* – 2015. – Vol. 367. – P. 1–28.
32. Verma D.K., Gupta D., Lal S.K. Host lipid rafts play a major role in binding and endocytosis of influenza A virus // *Viruses*. – 2018. – Vol. 10. – P. 650.
33. Shelton H., Ayora-Talavera G., Ren J., Loureiro S., Pickles R.J., Barclay W.S., Jones I.M. Receptor binding profiles of avian influenza virus hemagglutinin subtypes on human cells as a predictor of pandemic potential // *J. Virol.* – 2011. – Vol. 85. – P. 1875–1880.
34. Eichelberger M.C., Wan H. Influenza neuraminidase as a vaccine antigen. *Curr. Top // Microbiol. Immunol.* – 2015. – 386. – P. 275–299.
35. McAuley J.L., Gilbertson B.P., Trifkovic S., Brown L.E., McKimm-Breschkin J.L. Influenza virus neuraminidase structure and functions // *Front. Microbiol.* – 2019. – 10. – P. 39.
36. Blok J., Air G.M. Variation in the membrane-insertion and "stalk" sequences in eight subtypes of influenza type a virus neuraminidase // *Biochemistry* – 1982. – 21. – P. 4001–4007.
37. Barman S., Adhikary L., Chakrabarti A.K., Bernas C., Kawaoka Y., Nayak D.P. Role of transmembrane domain and cytoplasmic tail amino acid sequences of influenza A virus neuraminidase in raft association and virus budding // *J. Virol.* – 2004. – 78. – P. 5258–5269.
38. Mintaev R.R., Alexeevski A.V., Kordyukova L.V. Co-evolution analysis to predict protein-protein interactions within influenza virus envelope // *J. Bioinform. Comput. Biol.* – 2014. – 12. 1441008.
39. Harris A., Cardone G., Winkler D.C., Heymann J.B., Brecher M., White, J.M., Steven A.C. Influenza virus pleiomorphy characterized by cryoelectron tomography. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – 103. – P. 19123–19127.
40. Matsuoka Y., Swayne D.E., Thomas C., Rameix-Welti M.A., Naffakh N., Warnes C., Altholtz M., Donis R., Subbarao K. Neuraminidase stalk length and additional glycosylation of the hemagglutinin influence the virulence of influenza H5N1 viruses for mice // *J. Virol.* – 2009. – 83. – P. 4704–4708.

41. Colman P.M., Varghese J.N., Laver W.G. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase // *Nature*. – 1983. – 303. – P. 41–44.
42. Burmeister W.P., Ruigrok R.W., Cusack S. The 2.2 Å resolution crystal structure of influenza B neuraminidase and its complex with sialic acid // *Embo J.* – 1992. – 11. – P. 49–56.
43. Du R., Cui Q., Rong L. Competitive Cooperation of Hemagglutinin and Neuraminidase during Influenza A Virus Entry // *Viruses*. – 2019. - 11(5). – P. 458. <https://doi.org/10.3390/v11050458>.
44. Wen F., Wan X.F. Influenza neuraminidase: Underrated role in receptor binding // *Trends Microbiol.* - 2019.
45. Gong J., Xu W., Zhang J. Structure and functions of influenza virus neuraminidase // *Curr. Med. Chem.* – 2007. – 14. – P. 113–122.
46. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses // *Microbiol. Rev.* – 1992. – V. 56. – P. 152–179. doi: 10.1128/MR.56.1.152-179.1992.
47. Babon J. A., Cruz J., Ennis F. A., Yin L., Terajima M. A human CD4+ T cell epitope in the influenza hemagglutinin is cross-reactive to influenza A virus subtypes and to influenza B virus // *J. Virol.* – 2012. – 86. – P. 9233–9243. 10.1128/JVI.06325-11.
48. Bajic G., Maron M. J., Adachi Y., Onodera T., McCarthy K. R., McGee C. E., et al. Influenza antigen engineering focuses immune responses to a subdominant but broadly protective viral epitope // *Cell Host Microbe*. – 2019. – 25. – P. 827–835.e826. 10.1016/j.chom.2019.04.003.
49. Bajic G., van der Poel C. E., Kuraoka M., Schmidt A. G., Carroll M. C., Kelsoe G., et al. Autoreactivity profiles of influenza hemagglutinin broadly neutralizing antibodies // *Sci. Rep.* – 2019. – 9. – P. 3492. 10.1038/s41598-019-40175-8.
50. Wu Y., Wu Y., Tefsen B., Shi Y., Gao G.F. Bat-derived influenza-like viruses H17N10 and H18N11 // *Trends in Microbiology*. – 2014. - 22(4). – P. 183–191. doi:10.1016/j.tim.2014.01.010.52
51. Fereidouni S., Starick E., Karamendin K., Genova C.D., Scott S.D., Khan Y., Harder T., Kydyrmanov A. Genetic characterization of a new candidate hemagglutinin subtype of influenza A viruses // *Emerg Microbes Infect.* – 2023. - 12(2):2225645. doi: 10.1080/22221751.2023.2225645.
52. Nobusawa E., Aoyama T., Kato H., Suzuki Y., Tatenno Y., Nakajima K. Comparison of complete amino acid sequences and receptor-binding properties among 13 serotypes of hemagglutinins of influenza A viruses // *Virology*. – 1991. - 182(2). – P. 475-85. doi: 10.1016/0042-6822(91)90588-3. PMID: 2024485.
53. Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Estoepangestie A.T., Chaisingh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T., Webby R.J., Poon L.L., Chen H., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia // *Nature*. – 2004. – 430. - P. 209-213. 10.1038/nature02746

54. Dharmayanti N.L., Hartawan R., Wibawa H., Balish A., Donis R., Davis C.T., and Samaan G. Genetic characterization of clade 2.3.2.1 avian influenza A(H5N1) viruses, Indonesia, 2012 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 671–674.
55. Lee D.H., Criado M.F., & Swayne D.E. Pathobiological Origins and Evolutionary History of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2020. – 1.11(2) doi:10.1101/cshperspect.a038679.
56. Donis R.O. and G.J. Smith. Nomenclature updates resulting from the evolution of avian influenza A(H5) virus clades 2.1.3.2a, 2.2.1, and 2.3.4 during 2013–2014 // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2014. – P. 271–276.
57. Zhou X., Gao L., Wang Y., Li Y., Zhang Y., Shen C., Liu A., Yu Q., Zhang W., Pekin A., Guo F., Smith C., Clements A.C.A., Edwards J., Huang B., Soares Magalhães R.J. Geographical variation in the risk of H7N9 human infections in China: implications for risk-based surveillance // *Sci Rep*. – 2020. – Jun 25;10(1):10372. doi: 10.1038/s41598-020-66359-1
58. Hanna, A., Banks, J.D., Marston, A.R., Ellis J.S., Brookes M., and Brown I.H. Genetic characterization of highly pathogenic avian influenza (H5N8) virus from domestic ducks, England // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 879–882.
59. Harder T.C. and Vahlenkamp T.W. Influenza virus infections in dogs and cats // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2010. – P. 54–60.
60. He S., Shi J., Qi X., Huang G., Chen H. and Lu C. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger // *Microbes and Infection*. – 2015. – P. 54–61.
61. Акшалова П.Б., Байкара Б.Т. Методики, принципы и порядок прогнозирования вспышек по высокопатогенному гриппу птиц, планирования ветеринарно-профилактических мероприятий и целевых индикаторов эффективности реализации ветеринарных мероприятий, в том числе с учетом анализа и оценки риска. (рекомендации) // *Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт. Алматы*. – 2023. – 27 с.
62. Chauhan R.P., Gordon M.L. A Systematic Review Analyzing the Prevalence and Circulation of Influenza Viruses in Swine Population Worldwide // *Pathogens*. – 2020. – P. 9(5):355. Published 2020 May 8. doi:10.3390/pathogens9050355.
63. Medina R.A. 1918 influenza virus: 100 years on, are we prepared against the next influenza pandemic? // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2017. – 16. – P. 61–62. 10.1038/nrmicro.2017.174.
64. Koen J.S. A practical method for field diagnosis of swine diseases // *Am. J. Vet. Med.* – 1919. – 14. – P. 468–470.
65. Taubenberger J.K., Morens D.M. 1918 Influenza: The mother of all pandemics // *Emerg. Infect. Dis.* – 2006. – 12. – P. 15–22. doi: 10.3201/eid1209.05-0979.
66. Worobey M., Han G.Z., Rambaut A. Genesis and pathogenesis of the 1918 pandemic H1N1 influenza A virus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2014. – 111. – P. 8107–8112. doi: 10.1073/pnas.1324197111.
67. Fang, Jim-Min. Development of effective anti-influenza drugs: Congeners and conjugates- A review. *Journal of Biomedical Science*. – 2019. – 26. 10.1186/s12929-019-0567-0.

68. Saunders-Hastings P.R., Krewski D. Reviewing the History of Pandemic Influenza: Understanding Patterns of Emergence and Transmission // *Pathogens*. – 2016. – 5:66. doi: 10.3390/pathogens5040066
69. Smith G.J., Bahl J., Vijaykrishna D., Zhang J., Poon L.L., Chen H., Webster R.G., Peiris J.S., Guan Y. Dating the emergence of pandemic influenza viruses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2009. – 106. – P. 11709–11712. doi: 10.1073/pnas.0904991106.
70. Ignacio M., Nelson M.I., Quezada-Monroy F., Dutta J., Cortes-Fernández R., Lara-Puente J.H., Castro-Peralta F., Cunha L.F., Trovão N.S., Lozano-Dubernard B., Rambaut A., van Bakel H., García-Sastre A. Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico // *eLife*, - 2016. – 5. e16777–. doi:10.7554/eLife.16777.
71. Paules C., Subbarao K. Influenza // *Lancet* 390. – 2017. – P. 697–708. doi:10.1016/S0140-6736(17)30129-0.
72. Shi J., Deng G., Ma Sh., Zeng X., Yin X., Li M., Zhang B., Cui P., Chen Y., Yang H., Wan X., Liu L., Chen P., Jiang Y., Guan Y., Liu J., Gu W., Han Sh., Song Y., Liang L., Qu Zh., Hou Y., Wang X., Bao H., Tian G., Li Y., Jiang L., Li Ch., Chen H. Rapid Evolution of H7N9 Highly Pathogenic Viruses that Emerged in China in 2017 // *Cell Host & Microbe*. – 2018. S1931312818304347–. doi:10.1016/j.chom.2018.08.006.
73. Richard M., Fouchier R.A. Influenza A virus transmission via respiratory aerosols or droplets as it relates to pandemic potential // *FEMS Microbiol Rev*. – 2016. – 40(1). – P. 68-85. doi:10.1093/femsre/fuv039.
74. Gilsdorf A., Boxall N., Gasimov V., Agayev I., Mammadzade F., Ursu P., Gasimov E., Brown C., Mardel S., Jankovic D., Pimentel G., Amir I.A., Maher E.L., Salvi C., Legros D., Pessoa C. da Silva, Hay A., Andraghetti R., Rodier G., Ganter B. Two Clusters of Human Infection with Influenza A/H5N1 Virus in the Republic of Azerbaijan // *Euro Surveill*. – 2006. – 11(5). – P. 122-6.
75. Б.Т. Байқара, М.А. Садуакасова, П.Б. Акшалова, А.А. Султанов. Құстар миграциясының құс тұмауы вирусының Қазақстанда таралуына әсері // Л.Н. Гумилев атындағы ЕҰУ Хабаршысы. Биология ғылымдары сериясы. – 2023. - №4 (145). - 7-18 б.
76. Webster R.G., Govorkova E.A., H5N1 influenza-continuing evolution and spread // *N Engl J Med*., - 2006. – 355. – P. 2174–2177.
77. Brown J.D., Stallknecht D.E., Swayne D.E., Experimental infection of swans and geese with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) of Asian lineage, *Emerg Infect Dis*. – 2008. – 14. – P. 136–142.
78. Gaidet N., Cattoli G., Hammoumi S., Newman S.H., Hagemeijer W., Takekawa J.Y. Evidence of infection by H5N2 highly pathogenic avian influenza viruses in healthy wild waterfowl, *PLoS Pathog*. – 2008. – 4.
79. Kilpatrick A.M., Chmura A.A., Gibbons D.W., Fleischer R.C., Marra P.P., Daszak P. Predicting the global spread of H5N1 avian influenza // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2006. – 103. – P. 19368–19373.
80. Gilbert M., Chaitaweesub P., Parakamawongsa T., Premashtira S., Tiensin T., Kalpravidh W. Anatidae migration in the western Palearctic and spread of

highly pathogenic avian influenza H5N1 virus // *Emerg Infect Dis.* – 2006. – 12. – P. 1650–1656.

81. Paul K., Chan S. Outbreak of Avian Influenza A(H5N1) Virus Infection in Hong Kong in 1997 // *Clinical Infectious Diseases.* – 2002. – 34. – P. 58–S64. doi.org/10.1086/338820

82. Webby R.J., Webster R.G. Are we ready for pandemic influenza? // *Science.* – 2003. – 302. – P. 1519–1522.

83. Liu J., Xiao H., Lei F., Zhu Q., Qin K., Zhang X.W., Zhang X.L., Zhao D., Wang G., Feng Y., Ma J., Liu W., Wang J., Gao G.F.. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds // *Science.* – 2005. – 309. – P. 426–428.

84. Umar M., Hussain M., Murtaza G., Shaheen F.A., Zafar F. Ecological concerns of migratory birds in Pakistan: A review, Punjab Univ // *J. Zool.* – 2018. – 33(1). – P. 69-76. <http://dx.doi.org/10.17582/pujz/2018.33.1.69.7616>.

85. Avian Influenza / edited by David E. Swayne // Blackwell Publishing. - 2008. – P. 605 - ISBN 978-0-813-82047-7.

86. Lupiani B. The history of avian influenza / B. Lupiani, S. Reddy // *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* – 2009. – Vol. 32, Issue 4. - P. 311-323. - DOI 10.1016/j.cimid.2008.01.004.

87. Verhagen J.H., Fouchier R.A.M., Lewis N. Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild-domestic bird interface in Europe: future directions for research and surveillance // *Viruses.* – 2021. – 13. – P.212. 10.3390/v13020212

88. Lewis N.S., Banyard A.C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., Byrne A., Saduakassova M.A., King J., Harder T., Grund C., Essen S., Reid S.M., Brouwer A., Zinyakov N.G., Tegzhanov A., Irza V., Pohlmann A., Beer M., Fouchier R.A.M., Sultanov A.A., Brown I.H. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020 // *Emerg Microbes Infect.* – 2021. – V. 10(1). - P. 148-151. doi: 10.1080/22221751.2021.1872355.

89. Arafa A., Suarez D., Kholosy S.G., Hassan M.K., Nasef S., Selim A., Dauphin G., Kim M., Yilma J., Swayne D., and Aly M.M. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in Egypt indicating progressive adaptation // *Archives of Virology.* – 2012. – P. 1931–1947.

90. Sultankulova K., Orynbayev M., Kozhabergenov N., Akylbayeva K., Melisbek A., Jekebekov K., Zhunushov A., Zakarya K., Burashev Y. Complete Coding Genome Sequence of an Avian Influenza A/H3N8 Virus Strain Detected in North Kazakhstan in 2018 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Jul 16;9(29):e00441-20. doi: 10.1128/MRA.00441-20.

91. Abbas M.A., Spackman E., Fouchier R., Smith D., Ahmed Z., Siddique N., Sarmiento L., Naeem K., McKinley E.T., Hameed A., Rehmani S., and Swayne D.E. H7 avian influenza virus vaccines protect chickens against challenge with antigenically diverse isolates // *Vaccine.* – 2011. – P. 7424–7429.

92. Swayne D.E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza // *Avian Dis.* – 2012. – Dec;56(4 Suppl):818-28. doi: 10.1637/10183-041012-Review.1.

93. Sandybayev N., Stochkov V., Zholdybayeva Y. Phylogenetic analysis of hemagglutinin and neuraminidase genes of A/domestic goose/ Pavlodar/1/05/ (H5N1) avian influenza virus strain isolated in Kazakhstan // *In Options for the control of influenza VI: proceedings of the International Conference on Options for the Control of Influenza VI held in Toronto, Ontario, Canada, June 17–23, 2007*. International Medical Press, London, United Kingdom. – 2007. – P. 417–420.
94. Карабасова А.С., Маманова С.Б., Садуакасова М.А., Байкара Б.Т. //ПРОБЛЕМЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ // Эпизоотическая ситуация по гриппу птиц в мире и в Казахстане. – 2020. – Том 66. – С. 149-161.
95. Мамадалиев С. М., Матвеева В. М., Кошеметов Ж. К., Хайруллин Б. М., Орынбаев М. Б., Сандыбаев Н. Т., Кыдырбаев Ж. К., Зайцев В. Л., Жилин Е. С., Нурабаев С. Ш., Корягина М. И. Мониторинг особо опасных вирусных заболеваний животных и птиц на территории республик центральной Азии // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. – 2010. – №2 (6). – С. 3-10.
96. В Атырауской области бакланы погибли от птичьего гриппа H5N1. URL: https://www.inform.kz/ru/v-atyrauskoy-oblasti-baklany-pogibli-ot-ptich-ego-grippa-h5n1_a2796602
97. Cornelia A., Alice F., José L.G., Thijs K. et al. Avian influenza overview August – December 2020 // *EFSA Journal*. - 2020. – P. 57 - ISSN: 1831-4732. - DOI 10.2903/j.efsa.2020.6379.
98. Owen M., Black J.M. *Waterfowl Ecology*. New York, Blackie and Son. - 1990.
99. Huaiyu T., Sen Zh., Lu D., Thomas B., Yujun C., Scott H.N., John Y. T., Diann J. P., Xiangming X., Yarong W., Bernard C., Shanqian H., Ruifu Y., Bryan T.G. and Bing X. Avian influenza H5N1 viral and bird migration networks in Asia // *PNAS*. – 2014. – V. 112 (1). – P. 172-177.
100. Fourment M., Darling A.E. & Holmes E.C. The impact of migratory flyways on the spread of avian influenza virus in North America // *BMC Evol Biol*. – 2017. – V. 17. – P. 118. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0965-4>
101. Olsen B., Munster V. J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A. D. M. E., and Fouchier R. A. M. Global patterns of influenza A virus in wild birds // *Science*. – 2006. – V. 312 (772). – P. 384–388.
102. Б.Т. Байқара, М.А. Садуакасова, Ж.С. Жусупбеков, К.С. Бегасыл, А.А. Султанов. Құс тұмауы, ҚТВ-ның таралуы және тараған ошақтан жинақталған сынамаларды тест-жүйе құрастыруда пайдалану // *ҚазҰУ Хабаршысы. Биология сериясы*. – 2023. – №1 (94). – 68-80 б. <https://doi.org/10.26577/eb.2023.v94.i1.06>
103. Kida H., Yanagawa R., Matsuoka Y. Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response // *Infect. Immun*. – 1980. – V. 30. – P. 547–553.
104. Webster R.G., Yakhno M., Hinshaw V.S., Bean W.J., Murti K.G. Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks // *Virology*. – 1978. – V. 84. – P. 268–278. doi: 10.1016/0042-6822(78)90247-7.
105. Ramey A.M., Reeves A.B., Drexler J.Z., Ackerman J.T., De La Cruz S., Lang A.S., Leyson C., Link P., Prosser D.J., Robertson G.J., Wight, J., Youk, S.,

- Spackman, E., Pantin-Jackwood, M., Poulson, R. L., & Stallknecht, D. E. Influenza A viruses remain infectious for more than seven months in northern wetlands of North America // *Proc. Biol. Sci.* – 2020. – P. 287. :20201680. doi:10.1098/rspb.2020.1680.
106. Alasiri A, Soltane R, Hegazy A, Khalil AM, Mahmoud SH, Khalil AA, Martinez-Sobrido L, Mostafa A. Vaccination and Antiviral Treatment against Avian Influenza H5Nx Viruses: A Harbinger of Virus Control or Evolution. *Vaccines*. 2023; 11(11):1628. <https://doi.org/10.3390/vaccines11111628>
107. Karamendin K., Kydyrmanov A., Zhumatov K., Asanova S., Ishmukhametova N., Sayatov M. Phylogenetic analysis of avian influenza viruses of H11 subtype isolated in Kazakhstan // *Virus Genes*. - 2011. - 43(1), - P. 46–54. doi:10.1007/s11262-011-0603-y.
108. Blagodatski A., Trutneva K., Glazova O., Mityaeva O., Shevkova L., Kegeles E., Onyanov N., Fede K., Maznina A., Khavina E., Yeo S. J., Park H., Volchkov P. Avian Influenza in Wild Birds and Poultry: Dissemination Pathways, Monitoring Methods, and Virus Ecology // *Pathogens*. – 2021. – V. 10(5). – P. 630. doi:10.3390/pathogens10050630.
109. World Health Organization. Human infection with avian influenza A (H5N8) - Russian Federation. 26 February 2021. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON313>
110. Методические рекомендации по планированию и проведению эпизоотологического мониторинга гриппа в целевых популяциях птиц и оценке эффективности вакцинопрофилактики // М.: ФГБНУ “Росинформагротех. - 2020. – 24 с.
111. Reed L., Muench H. A simple method of estimation fifty percent and pints // *J. Amer. Hyg.* - 1938. - Vol. 27. - P. 493-497. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
112. Nagy Z., Riss A., Fujiyama S., Krebs A., Orpinell M., Jansen P., Cohen A., Stunnenberg H.G., Kato S., Tora L. The metazoan ATAC and SAGA coactivator HAT complexes regulate different sets of inducible target genes // *Cell. Molec. Life Sci.* – 2010. – 67(4). – P. 611-628.
113. Hoffmann E., Stech J., Guan Y., Webster R.G., Perez D.R. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses // *Arch Virol.* - 2001. - 146(12). – P. 2275-89. <https://doi.org/10.1007/s007050170002>.
114. Li O.T.W, Barr I., Leung C.Y.H., Chen H., Guan Y., et al. Reliable universal RT-PCR assays for studying influenza polymerase subunit gene sequences from all 16 hemagglutinin subtypes // *J Virol Methods*. – 2007. – 142. – P. 218-222.
115. Obenauer J.C., Denson J., Mehta P.K., Su X., Mukatira S., et al. Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates // *Science*. – 2006. – 311. – P. 1576 – 1580
116. Zou S. A practical approach to genetic screening for influenza virus variants // *J Clin Microbiol.* – 1999. – 35. – P. 2623-2627.
117. Sanger F., Nicklen S., Goulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *PNAS*. - 1977. - Vol. 74. - P. 5463-5467.
118. Baikara B., Seidallina A., Baimakhanova B., Kassymbekov Y., Sabyrzhan T., Daulbaeva K., Nuralibekov S., Khan Y., Karamendin K., Sultanov A. and

Kydyrmanov A. Genome Sequence of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8) // Microbiol Resour Announc. – 2023. - Jun 20;12(6):e0115122. doi: 10.1128/mra.01151-22.

119. Kydyrmanov A., Karamendin K., Kassymbekov Y., Daulbaeva K., Sabyrzhan T., Khan Y., Nuralibekov S., Baikara B., Fereidouni S.R. Mass Mortality in Terns and Gulls Associated with Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Caspian Sea, Kazakhstan // Viruses. – 2024. -16, 1661. doi: 10.3390/v16111661

120. Байқара Б.Т., Касымбеков Е.Т., Хан Е.Я., Даулбаева К.Д., Нуралибеков С.Ш., Сабыржан Т.Б., Fereidouni S.R., Карамендин К.О., Кыдырманов А.И.. Молекулярно-генетическая характеристика высокопатогенного штамма вируса гриппа птиц A/Mute swan/Mangystau/9421/2022, изолированного от зимующих птиц на побережье каспийского моря // Микробиология және вирусология. – 2023. - №3 (42). - 125-140 с. 2023. doi: 10.53729/MV-AS.2023.03.08

121. Russell C.J. Acid-induced membrane fusion by the hemagglutinin protein and its role in influenza virus biology // Curr Top Microbiol Immunol. – 2014. – 385. – P. 93-116. doi: 10.1007/82_2014_393.

122. Steinhauer D.A. Influenza A virus haemagglutinin glycoproteins. In Qinghua Wang & Yizhi Jane Tao (eds), Influenza: Molecular Virology. Caister Academic Press, Norfolk, UK. – 2010. – P. 69-108.

123. Кыдырманов А.И. Экология и эволюция вирусов гриппа А, циркулирующих в популяциях диких птиц в Республике Казахстан (2002-2009 гг.): Диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук. Алматы. - 2010. – 134 с.

124. Ha Y., Stevens D.J., Skehel J.J., and Wiley D.C. X-ray structures of H5 avian and H9 swine influenza virus hemagglutinins bound to avian and human receptor analogs // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2001. – 98. – P. 11181–11186. doi: 10.1073/pnas.201401198

125. Liu J., Stevens D.J., Haire L.F., Walker P.A., Coombs P.J., Russell R.J., Gamblin S.J., Skehel J.J. Structures of receptor complexes formed by hemagglutinins from the Asian Influenza pandemic of 1957 // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2009. - Oct 6;106(40):17175-80. doi: 10.1073/pnas.0906849106.

126. Dey K.K., Xie D., Stephens M. A new sequence logo plot to highlight enrichment and depletion // BMC Bioinformatics. – 2018. - Dec 10;19(1):473. doi: 10.1186/s12859-018-2489-3.

127. Su Y., Yang H.Y., Zhang B.J., Jia H.L., Tien P. Analysis of a point mutation in H5N1 avian influenza virus hemagglutinin in relation to virus entry into live mammalian cells // Arch Virol. – 2008. - 153(12):2253-61. doi: 10.1007/s00705-008-0255-y.

128. Young S.G.; Kitchen A.; Kayali G.; Carrel M. Unlocking pandemic potential: Prevalence and spatial patterns of key substitutions in avian influenza H5N1 in Egyptian isolates // BMC Infect. Dis. – 2018. – 18. –P. 314.

129. Gao Y., Zhang Y., Shinya K., Deng G., Jiang Y., Li Z., et al. Identification of amino acids in HA and PB2 critical for the transmission of H5N1 avian influenza viruses in a mammalian host // PLoS Pathog. – 2009. - 5:e1000709.

130. Yang Z.Y., Wei C.J., Kong W.P., Wu L., Xu L., Smith D.F., et al. Immunization by avian H5 influenza hemagglutinin mutants with altered receptor binding specificity // *Science*. – 2007. – 317. – P. 825–8.
131. Munier S., Larcher T., Cormier-Aline F., Soubieux D., Su B., Guigand L., Labrosse B., Cherel Y., Quéré P., Marc D., Naffakh N. A genetically engineered waterfowl influenza virus with a deletion in the stalk of the neuraminidase has increased virulence for chickens // *J Virol*. – 2010. - Jan;84(2). – P. 940-52. doi: 10.1128/JVI.01581-09.
132. Li J., Zu D.H., Cardona C.J., Miller J., Carpenter T.E. Emergence and genetic variation of neuraminidase stalk deletions in avian influenza viruses // *PLoS One*. – 2011. - Feb 23;6(2):e14722. doi: 10.1371/journal.pone.0014722.
133. Croville G., Soubies S.M., Barbieri J., Klopp C., Mariette J., Bouchez O., Camus-Bouclainville C., Guérin J.L. Field monitoring of avian influenza viruses: whole-genome sequencing and tracking of neuraminidase evolution using 454 pyrosequencing // *J Clin Microbiol*. – 2012. - Sep;50(9). – P. 2881-7. doi: 10.1128/JCM.01142-12.
134. Butt A.M., Siddique S., Idrees M. and Tong Y. Avian influenza A (H9N2): computational molecular analysis and phylogenetic characterization of viral surface proteins isolated between 1997 and 2009 from the human population // *Virology Journal*. - 2010. - vol. 7, no. 1. – P. 319. doi: 10.1186/1743422X-7-319.
135. Guo Y.J., Krauss S., Senne D.A., Mo I.P., Lo K.S., Xiong X.P., Norwood M., Shortridge K.F., Webster R.G., Guan Y. Characterization of the pathogenicity of members of the newly established H9N2 influenza virus lineages in Asia // *Virology*. – 2000. – 267. – P. 279–288. doi: 10.1006/viro.1999.0115
136. Zhang, J., Ma, K., Li, B. et al. A risk marker of tribasic hemagglutinin cleavage site in influenza A (H9N2) virus // *Commun Biol*. – 2021. - 4, 71. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01589-7>
137. Gu M., Xu L., Wang X. et al. Current situation of H9N2 subtype avian influenza in China // *Vet Res*. – 2017. - 48, 49. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0453-2>.
138. Ge F.F., Zhou J.P., Liu J., Wang J., Zhang W.Y., Sheng L.P., Xu F., Ju H.B., Sun Q.Y., Liu P.H. Genetic evolution of H9 subtype influenza viruses from live poultry markets in Shanghai, China // *J Clin Microbiol*. – 2009. – 47. – P. 3294–3300. doi: 10.1128/JCM.00355-09.
139. Zhu Y., Yang D., Ren Q., et al. Identification and characterization of a novel antigenic epitope in the hemagglutinin of the escape mutants of H9N2 avian influenza viruses // *Vet Microbiol*. – 2015. - 178(1-2). – P. 144-149.
140. Bertram S., Glowacka I., Steffen I., Köhl A., Pöhlmann S. Novel insights into proteolytic cleavage of influenza virus hemagglutinin // *Rev Med Virol*. – 2010. – 20. – P. 298-310. doi:10.1002/rmv.657
141. Zou S., Zhang Y., Li X., Bo H., Wei H., Dong L., ... Wang D. Molecular characterization and receptor binding specificity of H9N2 avian influenza viruses based on poultry-related environmental surveillance in China between 2013 and 2016 // *Virology*. - 2019. – 529. – P. 135–143. doi:10.1016/j.virol.2019.01.002.

142. Li C.J., Yu K.Z., Tian G.B., Yu D.D., Liu L.L., Jing B., Ping J.H., Chen H.L. Evolution of H9N2 influenza viruses from domestic poultry in Mainland China // *Virology*. – 2005. - 340 (1). – P. 70–83.
143. Li J., Ishaq M., Prudence M., Xi X., Hu T., Liu Q., Guo D. Single mutation at the amino acid position 627 of PB2 that leads to increased virulence of an H5N1 avian influenza virus during adaptation in mice can be compensated by multiple mutations at other sites of PB2 // *Virus Res.* – 2009. – 144. – P. 123–129.
144. Hu M., Chu H., Zhang K., Singh K., Li C., Yuan S., Chow B.K.C., Song W., Zhou J., Zheng B.-J. Amino acid substitutions V63I or A37S/I61T/V63I/V100A in the PA N-terminal domain increase the virulence of H7N7 influenza A virus // *Sci. Rep.* – 2016. – 6. – P. 37800.
145. Yamayoshi S., Fukuyama S., Yamada S., Zhao D., Murakami S., Uraki R., Watanabe T., Tomita Y., Neumann G., Kawaoka Y. Amino acids substitutions in the PB2 protein of H7N9 influenza A viruses are important for virulence in mammalian hosts // *Sci. Rep.* – 2015. – 5. – P. 8039.
146. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol Biol Evol.* – 2016. – 33. – P. 1870–1874. (doi: 10.1093/molbev/msw054).
147. Belser J.A., Gustin K.M., Pearce M.B., Maines T.R., Zeng H., Pappas C., Sun X., Carney P.J., Villanueva J.M., Stevens J. et al. Pathogenesis and transmission of avian influenza A (H7N9) virus in ferrets and mice // *Nature*. – 2013. – 501. – P. 556–559.
148. Chen L.-M., Blixt O., Stevens J., Lipatov A.S., Davis C.T., Collins B.E., Cox N.J., Paulson J.C., Donis R.O. In vitro evolution of H5N1 avian influenza virus toward human-type receptor specificity // *Virology*. – 2012. – 422. – P. 105–113.
149. Shinya K., Ebina M., Yamada S., Ono M., Kasai N., Kawaoka Y. Influenza virus receptors in the human airway // *Nature*. – 2006. – 440. – P. 435–436.
150. Song J., Xu J., Shi J., Li Y., Chen H. Synergistic Effect of S224P and N383D Substitutions in the PA of H5N1 Avian Influenza Virus Contributes to Mammalian Adaptation // *Sci. Rep.* – 2015. – 5. – P. 10510.
151. Xiao C., Ma W., Sun N., Huang L., Li Y., Zeng Z., Wen Y., Zhang Z., Li H., Li Q., Yu Y., Zheng Y., Liu S., Hu P., Zhang X., Ning Z., Qi W., Liao M. PB2-588 V promotes the mammalian adaptation of H10N8, H7N9 and H9N2 avian influenza viruses // *Sci Rep.* – 2016. – 6. – P. 19474.
152. Murakami J., Shibata A., Neumann G., Imai M., Watanabe T., Kawaoka Y. Characterization of H9N2 Avian Influenza Viruses Isolated from Poultry Products in a Mouse Model // *Viruses*. – 2022. - 30;14(4). – P. 728. doi: 10.3390/v14040728.
153. Han L., He W., Yan H., Li X., Wang C., Shi Q., Zhou T., Dong G. The evolution and molecular characteristics of H9N2 avian influenza viruses in Jiangxi of China // *J Med Virol.* – 2019. - Apr;91(4). – P. 711-716. doi: 10.1002/jmv.25363.
154. Elgendy E.M., Arai Y., Kawashita N., Daidoji T., Takagi T., Ibrahim M.S. et al. Identification of polymerase gene mutations that affect viral replication in H5N1 influenza viruses isolated from pigeons // *J Gen Virol.* – 2017. - 1;98(1). – P. 6–17.
155. Gabriel G., Dauber B., Wolff T., Planz O., Klenk H.-D., & Stech J. The viral polymerase mediates adaptation of an avian influenza virus to a mammalian host

// Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2005. - 102(51). – P. 18590–18595. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507415102>

156. Song J., Feng H., Xu J., Zhao D., Shi J., Li Y., ... Chen H. The PA protein directly contributes to the virulence of H5N1 avian influenza viruses in domestic ducks // Journal of Virology. - 2011. – 85(5). – P. 2180–2188. <https://doi.org/10.1128/JVI.01975-10>

157. Fang S., Wang X., Dong F., Jin T., Liu G., Lu X. et al. Genomic characterization of influenza A (H7N9) viruses isolated in Shenzhen, Southern China, during the second epidemic wave // Arch Virol. – 2016. - Aug;161(8). – P. 2117–32.

158. Xu G., Zhang X., Gao W., Wang C., Wang J., Sun H. et al. Prevailing PA Mutation K356R in Avian Influenza H9N2 Virus Increases Mammalian Replication and Pathogenicity // Lyles DS, editor. J Virol. – 2016. - Sep 15;90(18). – P. 8105–14.

159. Fan S., Hatta M., Kim J.H., Halfmann P., Imai M., Macken C.A. et al. Novel residues in avian influenza virus PB2 protein affect virulence in mammalian hosts // Nat Commun. – 2014. - Dec;5(1). - P. 5021.

160. Jiao P., Tian G., Li Y., Deng G., Jiang Y., Liu C., Liu W., Bu Z., Kawaoka Y., Chen H. A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice // J Virol. – 2008. - 82(3). – P. 1146–1154.

161. Brown E.G., Bailly J.E. Genetic analysis of mouse-adapted influenza A virus identifies roles for the NA, PB1, and PB2 genes in virulence // Virus Res. – 1999. - May;61(1). – P. 63–76.

162. Li J., Zhang K., Chen Q., Zhang X., Sun Y., Bi Y. et al. Three amino acid substitutions in the NS1 protein change the virus replication of H5N1 influenza virus in human cells // Virology. – 2018. - Jun;519. – P. 64–73.

163. Li Z., Jiang Y., Jiao P., Wang A., Zhao F., Tian G. et al. The NS1 Gene Contributes to the Virulence of H5N1 Avian Influenza Viruses // J Virol. – 2006. - Nov;80(22). – P. 11115–23

164. Wang W., Lu B., Zhou H., Suguitan A.L., Cheng X., Subbarao K. et al. Glycosylation at 158N of the Hemagglutinin Protein and Receptor Binding Specificity Synergistically Affect the Antigenicity and Immunogenicity of a Live Attenuated H5N1 A/Vietnam/1203/2004 Vaccine Virus in Ferrets // J Virol. – 2010. - Jul;84(13). – P. 6570–7.

165. Kaverin N.V., Rudneva I.A., Ilyushina N.A., Lipatov A.S., Krauss S., Webster R.G. Structural Differences among Hemagglutinins of Influenza A Virus Subtypes Are Reflected in Their Antigenic Architecture: Analysis of H9 Escape Mutants // J Virol. – 2004. – Jan 1;78(1). – P. 240–9.

166. Nagy A., Mettenleiter T.C., Abdelwhab E.M. A brief summary of the epidemiology and genetic relatedness of avian influenza H9N2 virus in birds and mammals in the Middle East and North Africa // Epidemiol Infect. – 2017. – 145. – P. 3320–33. doi: 10.1017/S0950268817002576

167. Liu J., Huang F., Zhang J., Tan L., Lu G., Zhang X., Zhang H. Characteristic amino acid changes of influenza A(H1N1)pdm09 virus PA protein enhance A(H7N9) viral polymerase activity // Virus Genes. - 2016. -52. – P. 346–353. doi: 10.1007/s11262-016-1311-4.

168. Shaw M., Cooper L., Xu X. et al. Molecular changes associated with the transmission of avian influenza A H5N1 and H9N2 viruses to humans // *J Med Virol.* – 2002. – 66. – P. 107–114
169. Gabriel G., Herwig A., Klenk H.D. Interaction of polymerase subunit PB2 and NP with importin alpha1 is a determinant of host range of influenza A virus // *PLoS Pathog.* – 2008. - Feb 8;4(2):e11. doi: 10.1371/journal.ppat.0040011.
170. Hatta M., Gao P., Halfmann P., Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses // *Science.* – 2001. – 293. – P. 1840–1842.
171. Salomon R., Franks J., Govorkova E.A., Ilyushina N.A., Yen H.L. et al. The polymerase complex genes contribute to the high virulence of the human H5N1 influenza virus isolate A/Vietnam/1203/04 // *J Exp Med.* – 2006. - Mar 20;203(3). – P. 689-97. doi: 10.1084/jem.20051938.
172. Li Z., Chen H., Jiao P., Deng G., Tian G. et al. Molecular basis of replication of duck H5N1 influenza viruses in a mammalian mouse model // *J Virol.* – 2005. - Sep;79(18). – P. 12058-64. doi: 10.1128/JVI.79.18.12058-12064.2005.
173. Tosh C., Murugkar H.V., Nagarajan S. et al. Emergence of amantadine-resistant avian influenza H5N1 virus in India // *Virus Genes.* – 2011. – 42. – P. 10–15. <https://doi.org/10.1007/s11262-010-0534-z>
174. Hulse-Post D.J., Franks J., Boyd K., Salomon R., Hoffmann E., Yen H.L., Webby R.J., Walker D., Nguyen T.D., Webster R.G. Molecular changes in the polymerase genes (PA and PB1) associated with high pathogenicity of H5N1 influenza virus in mallard ducks // *J. Virol.* - 2007. – 81. – P. 8515–8524.
175. Elgendy E.M., Arai Y., Kawashita N., Daidoji T., Takagi T., Ibrahim M.S., Nakaya T., Watanabe Y. Identification of polymerase gene mutations that affect viral replication in H5N1 influenza viruses isolated from pigeons // *J. Gen. Virol.* – 2017. – 98. – P. 6–17.
176. Xu C., Hu W.B., Xu K., He Y.X., Wang T.Y., Chen Z., Li T.X., Liu J.H., Buchy P., Sun, B. Amino acids 473V and 598P of PB1 from an avian-origin influenza A virus contribute to polymerase activity, especially in mammalian cells // *J. Gen. Virol.* – 2012. - 93 Pt 3. – P. 531–540.
177. Elgendy E.M., Watanabe Y., Daidoji T., Arai Y., Ikuta K., Ibrahim M.S., Nakaya T. Genetic characterization of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses isolated from naturally infected pigeons in Egypt // *Virus Genes.* - 2016. – 52. – P. 867–871.
178. Mosaad Z., Arafa A., Hussein H.A., Shalaby M.A. In silico thermodynamic stability of mammalian adaptation and virulence determinants in polymerase complex proteins of H9N2 virus // *J Genet Eng Biotechnol.* – 2018. - Dec;16(2). – P. 757-767. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.02.008.
179. Sun T., Guo Y., Zhao L., Fan M., Huang N., Tian M., Liu Q., Huang J., Liu Zh., Zhao Y., Ji Zh., Ping J. Evolution of the PB1 gene of human influenza A (H3N2) viruses circulating between 1968 and 2019 // *Transboundary and emerging diseases.* – 2022. - Jul; 69 (4). – P. 1824-1836.
180. Hu J., Hu Z., Mo Y., Wu Q., Cui Z., Duan Z., Huang J., Chen H., Chen Y., Gu M., Wang X., Hu S., Liu H., Liu W., Liu X., Liu X. The PA and HA gene-

mediated high viral load and intense innate immune response in the brain contribute to the high pathogenicity of H5N1 avian influenza virus in mallard ducks // J Virol. – 2013. - Oct;87(20). – P. 11063-75. doi: 10.1128/JVI.00760-13.

181. Nao N., Kajihara M., Manzoor R., Maruyama J., Yoshida R., Muramatsu M. et al. A single amino acid in the m1 protein responsible for the different pathogenic potentials of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus strains // PLoS One. - 2015. - 10:e137989. doi: 10.1371/journal.pone.0137989

182. Fan S., Deng G., Song J., Tian G., Suo Y., Jiang Y. et al. Two amino acid residues in the matrix protein M1 contribute to the virulence difference of H5N1 avian influenza viruses in mice // Virology. – 2009. – 384. – P. 28–32.

183. Seo S.H., Hoffmann E., Webster R.G. The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host anti-viral cytokine responses // Virus Res. – 2004. - Jul;103(1-2). – P. 107-13. doi: 10.1016/j.virusres.2004.02.022.

184. Jiao P., Tian G., Li Y., Deng G., Jiang Y., Liu C., Liu W., Bu Z., Kawaoka Y., Chen H. A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice // J Virol. – 2008. - Feb;82(3). – P. 1146-54. doi: 10.1128/JVI.01698-07.

185. Neumann G. H5N1 influenza virulence, pathogenicity and transmissibility: What do we know? // Future Virol. – 2015. – 10. – P. 971–980.

186. Yin Y., Liu Y., Fen J., Liu K., Qin T., Chen S., Peng D., Liu X. Characterization of an H7N9 Influenza Virus Isolated from Camels in Inner Mongolia, China // Microbiol Spectr. – 2023. - Feb 21;11(2):e0179822. doi: 10.1128/spectrum.01798-22.

ҚОСЫМША А



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 7497

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2022/0683.2

(22) 09.08.2022

(45) 07.10.2022

(54) Құс тұмауы вирусын анықтауға және дифференциалдауға арналған реал-тайм ПТР тест-жүйесін құрастыру тәсілі
Способ разработки реал-тайм ПЦР тест-системы для выявления и дифференциации вируса гриппа птиц
Method of developing a real-time PCR test system for detecting and differentiating avian influenza virus

(73) «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі (KZ)
Товарищество с ограниченной ответственностью «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» (KZ)
«Kazakh Scientific Research Veterinary Institute» Limited Liability Partnership (KZ)

(72) Садуақасова Меруерт Акберовна (KZ)	Saduakassova Meruert Akberovna (KZ)
Султанов Ахметжан Акиевич (KZ)	Sultanov Akhmetzhan Akiyevich (KZ)
Маманова Салтанат Бекбосыновна (KZ)	Mamanova Saltanat Bekbosynovna (KZ)
Жусупбеков Жасузақ Сарсенович (KZ)	Zhussupbekov Zhassuzak Sarsenovich (KZ)
Байкара Баршагуль (KZ)	Baikara Barshagul (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ҚОСЫМША Ә

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ		РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН	
			
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN			
ПАТЕНТ PATENT			
№ 8586			
ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL			
	(21)	2023/0835.2	
	(22)	14.08.2023	
	(45)	16.08.2024	
(54) Диагностикалық препараттар мен вакцина дайындау үшін пайдаланылатын 2.3.4.4b кладына жататын А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1) құс тұрмау вирусының штаммы Штамм вируса гриппа птиц кллада 2.3.4.4b А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1), используемый для приготовления диагностических препаратов и вакцин Avian influenza virus strain of the clade 2.3.4.4b A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (H5N1) used for the preparation of diagnostic preparations and vaccines (73) «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі (KZ) Товарищество с ограниченной ответственностью «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии» (KZ) «Research and production center for microbiology and virology» limited liability Partnership (KZ) (72) Кыдырманов Айдын Исағалиевич (KZ) Кыдырманов Aidyn Issagaliyevich (KZ) Карамендин Кобей Омертаевич (KZ) Karamendin Kobey Omertayevich (KZ) Даулбаева Клара Дакисhevна (KZ) Daulbayeva Klara Dakishevna (KZ) Касымбекow Ермұхаммет Торебекович (KZ) Kassymbekov Yermukhammet Torebekovich (KZ) Хан Елизавета Яковлевна (KZ) Khan Yelizaveta Yakovlevna (KZ) Байкара Баршагуль Тенизбаевна (KZ) Baikara Barshagul Tenizbaevna (KZ) Сабыржан Темірлан Берікулы (KZ) Sabyrtzhan Temirlan Berikuly (KZ) Нуралибекow Сардор Шукратович (KZ) Nuralibekov Sardor Shukhratovich (KZ)			
		ЭЦҚ қол қойылды Подписано ЭЦП Signed with EDS	
		Е. Оспанов Е. Оспанов Y. Ospanov	
«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» Director of RSE «National institute of intellectual property»			

ҚОСЫМША Б

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

АВТОРДЫҢ КУӘЛІГІ
УДОСТОВЕРЕНИЕ АВТОРА
№ 110552

Байкара Баршагуль Тенизбаевна (KZ)

және/и Кыдырманов Айдын Исагалиевич (KZ); Карамендин Кобей Омертаевич (KZ); Даулбаева Клара Дакишевна (KZ); Касымбеков Ермухаммет Торебекович (KZ); Хан Елизавета Яковлевна (KZ); Сабыржан Темірлан Берікұлы (KZ); Нуралибеков Сардор Шухратович (KZ)

пайдалы модельдің авторы(лары) болып табылатындығы осымен куәландырылады
является(ются) автором(ами) полезной модели

(11) 8586

(54) Диагностикалық препараттар мен вакцина дайындау үшін пайдаланылатын 2.3.4.4b кладына жататын А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1) құс тұмау вирусының штаммы Штамм вируса гриппа птиц клада 2.3.4.4b А/чеграва/Атырау/9184/2022 (H5N1), используемый для приготовления диагностических препаратов и вакцин

(73) «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі (KZ)
Товарищество с ограниченной ответственностью «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии» (KZ)

  **Е. Оспанов**

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»

ҚОСЫМША В

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ХОЛДИНГ
«QazBioPharm»**



**ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«КАЗАХСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ»
(ТОО «КазНИВИ»)**

МЕТОДИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО

**Зонирование и регионализация территории Республики Казахстан с
учетом анализа рисков заноса и возможности распространения
высокопатогенного вируса гриппа птиц**

Алматы 2023

ҚОСЫМША Ғ

GenBank мәліметтер базасында сақтауға берілген штаммдар гендерінің
Fasta файлдағы нуклеотидтік тізбегі

> OP740956 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/PB2/2020
(H5N8)) segment 1 polymerase PB2 (PB2) gene, partial cds

AAAAGAACTAAGAGATTTGATGTCGCGAGTCTCGCACTCGCGAGATAC
TAACAAAAACCACTGTGGACCATATGGCCATAATAAAGAAATACACATC
AGGGAGACAGGAGAAGAACCCTGCCCTCAGGATGAAATGGATGATGGCA
ATGAAATATCCTATTACAGCTGACAAAAGAATAATGGAGATGATCCCTGA
AAGGAATGAGCAAGGTCAGACTCTCTGGAGCAAAACAAATGATGCTGGA
TCAGACAGAGTGATGGTCTCACCTCTGGCTGTGACATGGTGGAAATAGAAA
TGGGCCAACAACAAGTACAGTACACTACCCAAAAGTCTACAAAACCTACT
TTGAAAAGGTAGAAAGGTTAAAACATGGAACCTTTGGTCCTGTTCACCTT
CGAAATCAGGTTAAGATACGCCGCAGGGTTGACATAAACCCGGGCCATG
CAGATCTCAGTGCCAAAGAAGCACAGGATGTCATCATGGAGGTTGTTTTT
CCAAATGAAGTTGGAGCCAGGATCTTGACATCAGAGTCACAATTAACAAT
AACAAGGGAAAAGAAGGAGGAACCTTCAGGATTGCAAGATTGCTCCTTTG
ATGGTGGCATAACATGTTGGAAAGAGAACTGGTTCGCAAGACCAGATTTTT
ACCAGTAGCTGGCGGAACAAGCAGCGTATACATCGAGGTATTGCATTTGA
CTCAAGGGACCTGCTGGGAACAAATGTACACACCAGGAGGGGAGGTGAG
AAATGATGATGTTGATCAGAGTTTGATCATTGCTGCTAGAAATATAGTTA
GGAGGGCAACAGTATCAGCAGACCCATTGGCTTCGCTCTTGGAATGTGC
CACAGTACACAAATTGGTGGAGTGAGGATGGTGGACATTCTTAGGCAGA
ACCCAACAGAGGAGCAAGCTGTGGATATATGCAAAGCAGCAATGGGTTT
AAGAATCAGTTCATCCTTCAGCTTTGGAGGTTTCACTTTCAAAGGACAA
GTGGGTCGTCTGTCAAAGAGAAGAAGAAATACTCACTGGCAACCTCCA
AACGCTGAAAGTTAGAATACATGAAGGATATGAGGAATTCACAATGGTT
GGGCGAAGAGCTACAGCCATTTTGAGGAAAGCAACCAGGAGACTGATCC
AATTAATAGTGAGTGGAAGAGACGAGCAGTCAATCGCTGAAGCAATCAT
AGTGGCAATGGTTTTCTCACAGGAGGATTGCATGATAAAAGCAGTACGAG
GTGATTTGAATTTTGTCAACAGAGCGAATCAGCGGCTAAATCCTATGCAT
CAACTTCTGAGGCATTTCCAAAAGGATGCAAAAGTGCTGTTTCAAACCTG
GGGGATTGAATCAATTGACAATGTAATGGGGATGATCGGGATACTGCCA
GACATGACCCCCAGCACAGAGATGTCCTGAGAGGAGTGAGAGTCAGCA
AAATGGGAGTGATGAATATTCCAGTGCTGAGAGAGTGGTCGTGAGCATT
GATCGCTTCTTGAGAGTCCGAGATCAGAGGGGAAATGTGCTTCTGTCTCC
TGAGGAAGTTAGTGAAACACATGGAACAGAGAACTGACGATAACGTAT
TCATCGTCTATGATGTGGGAAATCAATGGTCCGGAATCCGTGCTAGTCAA
CACATATCAATGGATCATTAGAAATTGGGAAACTGTGAAGATTCAGTGGT
CCCAGGACCCTACGATGTTGTACAATAAGATGGAATTTGAGCCCTTCCAA
TCCTTGGTGCCCAAGGCTGCTAGAGGCCAGTATAGTGGGTTTGTGAGGAC
ATTATTCCAACAGATGCGTGATGTGTTGGGGACATTTGACACTGTCCAAA
TAATAAAGCTCCTACCATTTGCAGCAGCCCCACCGGAACAGAGTAGGATG

CAATTTTCCTCTCTGACTGTGAACGTAAGAGGTTTCAGGAATGAGAATACT
TGTGAGGGGGCAACTCCCCTGTGTTCAACTATAATAAGGCCACCAAGAGAC
TCACAGTTCTTGGAAAGGATGCAGGCACCTTGACAGAATATCCAGATGAG
GGAACAGCAGGAGTGGAGTCTGCAGTATTAAGAGGATTTCTAATTCTGGG
CAAAGAGGACAAAAGATATGGACCAGCATTGAGCATCAACGAATTGAGC
AATCTTGCGAAAGGGGAAAAGGCTAATGTGTTGATAGGACAAGGAGACG
TGGTGTGGTAATGAAACGGAAACGGGACTCTAGCATACTTACTGACAGC
CAGACAGCGACCAAAAGAATTTCGGATGGCCATCAATTAG

> OP740957 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/PB1/2020 (H5N8)) segment 2 polymerase PB1 (PB1) gene, partial cds; and putative PB1-F2 protein (PB1-F2) gene, complete cds

ATGTCAATCCGACTTTACTTTTCTTAAAAGTGCCAGCGCAAAATGCTA
TAAGTACTACATTCCCTTACACTGGAGATCCCCCATAACAGCCATGGAACA
GGAACAGGGTATAACCATGGACACAGTAAACAGAACACATCAATACTCAG
AAAAGGGAAAGTGGACAACAAACACAGAAACCGGAGCACCCCAACTCA
ACCCAATTGATGGACCATTACCAGAGGACAATGAGCCAATCGGATATGC
ACAAACTGATTGCGTGTGGAAAGCAATGGCTTTCCTTGAAGAATCCCACC
CAGGGATATTTGAAAACCTCTTGTCTTGAAGCGATGGAAATCGTTCAGCAA
ACAAGAGTGGACAACTAACCCAAGGTCGCCAGACTTATGACTGGACAC
TGAACAGAAACCAACCAGCTGCAACCTCTTTGGCCAACACTATAGAGGTG
TTCAGATCGAATGGTCTGACAGCCAATGAATCAGGGAGACTGATAGATTT
TCTCAGGGATGTGATGGAATCAATGGATAAAGAAGAGATGGAAGTAACA
ACACATTTCCAGAGAAAAAGAAGAGTGAGGGACAACATGACTAAGAAGA
TGGTCACACAAAGAACAATAGGGAAGAAGAAGCAGAGGCTGAACAAGA
GGAGTTACTTAATAAGAGCACTGACATTGAATGCAATGACCAAAGATGC
AGAAAGAGGCAAGTTGAAGAGACGGGCAATTGCAACACCCGGGATGCAG
ATTAGAGGATTCGTGTACTTCGTTGAAACACTAGCGAGGAGCATCTGTGA
GAACTAGAGCAATCTGGGCTCCCTGTTGGAGGGAATGAGAAGAAGGCT
AAATTGGCAAATGTTGTGAGAAAAATGATGACTAACTCACAAGATACAG
AGCTCTCCTTTACAATTACTGGAGACAACACAAAATGGAATGAGAATCAA
AACCCTCGGATGTTTTTGGCAATGATAACATATATCACAAGAAACCAACC
TGAATGGTTTAGAAATGTCTTAAGCATTGCCCTATAATGTTCTCAAACA
AAATGGCGAGATTAGGGAAAGGATACATGTTTGAAAGTAAGAGCATGAA
GCTAAGAACACAAATACCAGCAGAGATGCTTACAAATATTGATCTGAAGT
ATTTCAACGAACCAACGAGAAAGAAAATCGAGAAAATAAGACCTCTGCT
GATTGATGGCACGGCCTCATTGAGTCCTGGGATGATGATGGGCATGTTCA
ATATGCTGAGCACAGTATTAGGGGTCTCAATCCTGAATCTCGGGCAAAAG
AGGTACACCAAAACCACATACTGGTGGGATGGACTTCAATCCTCTGATGA
TTTCGCTCTCATAGTGAATGCACCGAATCATGAGGGGATACAAGCAGGAG
TGGATAGATTCTATAGGACCTGCAAACTGGTTGGGATCAACATGAGCAAA
AAGAAGTCTTACATAAACCAGAACAGGAACATTTGAGTTCACAAGTTTTTT
CTACCGCTATGGATTTGTAGCTAACTTCAGTATGGAACCTACCCAGCTTTGG
AGTGTCTGGAATCAATGAATCAGCTGACATGAGCATTGGAGTTACAGTGA

TAAAAACAATATGATAACAATGATCTTGGACCAGCAACAGCTCAAAT
GGCTCTTCAGTTATTCATCAAAGACTATAGGTACACATACCGATGCCACA
GGGGTGATACACAAATTCAAACGAGGAGATCATTCGAGCTGAAGAAGCT
GTGGGAGCAGACCCGTTCAAAGGCAGGGCTGTTGATATCAGACGGGGGG
CCAAACCTATACAACATTCGGAATCTCCACATCCCAGAGGTCTGCTTGAA
GTGGGAGCTGATGGATGAAGACTACCAAGGCAGGCTGTGCAATCCTCTG
AATCCATTTGTCAGTCATAAAGAGATTGAGTCCGTAAACAATGCTGTAGT
AATGCCCCGCCCATGGCCCCGGCCAAGAGCATGGAATATGATGCTGTTGCGA
CCACACACTCGTGGATTCTTAAGAGGAACCGTTCCATTCTCAATACCAGC
CAAAGGGGAATTCTTGAGGATGAGCAGATGTACCAAAAGTGCTGTAGTCT
ATTCGAGAAATTCTTCCCCAGCAGTTCATACAGGAGGCCAGTTGGAATTT
CCAGCATGGTGGAGGCCATGGTGTCTAGGGCCCGAATTGATGCACGCATC
GACTTCGAATCTGGAAGGATTAAGAAAGAAGAGTTTGCTGAGATCATGA
AGATCTGTTCCACCATTGAAGAGCTCAGACGGCAAAAATAGTGAATTTAG
CTTGTCC

> OP740955 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/PA/2020 (H5N8))
segment 3 polymerase PA (PA) and PA-X protein (PA-X) genes, complete cds

ATGGAAGACTTTGTGCGACAATGCTTCAATCCAATGATTGTCGAGCT
TGCGGAAAAGGCAATGAAAGAATATGGGGAAAGATCCTAAGATCGAAACA
AACAAGTTTGCCGCAATATGTACACACTTAGAAGTCTGCTTCATGTATTC
GGATTTCCATTTTATTGATGAACGAGGCGAATCAATAATCGTAGAATCTG
GCGACCCGAATGCATTATTGAAGCACCGATTTGAGATAATTGAAGGGAG
AGACCGAACAATGGCCTGGACAGTGGTGAATAGTATATGCAACACTACA
GGAGTCGAAAAGCCCAAGTTCCTTCCTGATTTGTATGACTACAGAGAAAA
CCGATTCATTGAAATTGGAGTAACGCGAAGGGAAAGTTCACATATACTATC
TTGAAAAAGCCAACAAGATAAAATCAGAGAAAACACACATTCACATATT
CTCATTCACTGGGGAGGAAATGGCCACCAAGGCAGATTACACTCTTGATG
AAGAGAGCAGAGCAAGAATAAAAACCAGGCTATTCACTATAAGACAAGA
GATGGCCAATAGGGGTCTATGGGATTCCTTTTCGTCAGTCCGAGAGAGGCG
AAGAGACAATTGAAGAAAGATTTGAAATCACAGGAACCATGCGCAGGCT
TGCTGACCAAAGTCTCCCACCGAAGTTCGCCAGCCTTGAAAACCTTTAGAG
CCTATGTGGATGGATTTGAACCGAACGGCTGCATTGAGGGCAAGCTTTCT
CAAATGTCAAAGAAGTGAATGCCAGAATTGAGCCATTTCTGAAGACAA
CACCACGCCCTCTCAGATTACCTGATGGACCTCCCTGTTCCCAGCGGTCG
AAGTTCTTGCTAATGGATGCCCTTAAATTGAGCATTGAAGACCCGAGCCA
TGAGGGGGAGGGTATAACCGCTGTACGATGCAACCAAATGCATGAAGACA
TTTTTTGGCTGGAAGGAGCCCAACATCGTGAAACCACATGAAAAGGGCAT
AAACCCTAATTACCTCCTGGCTTGGAAGCAGGTGCTATCAGAACTCCAAG
ATATTGAAAACGAGGAGAAAATCCCAAAAACAAAGAACATGAAGAAGA
CGAGCCAACCTGAAGTGGGCACTTGGTGAAAACATGGCACCAGAGAAAGT
GGACTTTGAGGACTGTAAAGATGTTAGCGATCTAAACAGTACGACAGTG
ACGAACCAGAATCTAGATCACTAGCAAGTTGGATCCAGAGTGAATTTAAC
AAGGCTTGCGAACTGACAGATTCGAGTTGGATTGAACTTGATGAAATAGG

GGAAGACGTTGCTCCAATTGAACACATTGCGAGTATGAGGAGGAACTATT
 TCACAGCGGAAGTGTCCCATTGCAGGGCTACAGAATACATAATGAAAGG
 AGTATACATAAACACAGCTTTATTGAATGCATCCTGTGCAGCCATGGATG
 ACTTCCAACCTGATTCCAATGATAAGCAAATGCAGAACCAAAGAAGGGAG
 ACGGAAGACAAATCTGTATGGCTTCATTATAAAAGGAAGATCCCATTTGA
 GGAATGACACCGATGTGGTAAACTTTGTGAGCATGGAATTCTCTCTCACT
 GACCCAAGGCTGGAGCCACACAAATGGGAAAAATACTGTGTGCTTGAGG
 TAGGAGACATGCTCCTACGGACTGCAATAGGCCAAGTGTCAAGGCCCATG
 TTCCTGTATGTGAGAACCAATGGGACTTCTAAGATCAAAATGAAATGGGG
 TATGGAGATGAGGCGATGCCTTCTTCAATCCCTTCAACAAATTGAGAGCA
 TGATTGAAGCCGAGTCTTCTGTCAAAGAAAAAGACATGACCAAGGAATTC
 TTTGAAAACAGATCAGAAACATGGCCAATTGGAGAGTCACCCAACGGAG
 TGGAGGAAGGCTCCATTGGGAAGGTGTGCAGAACATTGCTAGCAAAGTC
 TGTGTTCAACAGCCTATATGCATCTCCACAACCTCGAGGGGTTTTTCAGCTG
 AATCAAGAAAGTTGCTTCTCATTGTTTCAGGCACTTAGGGACAACCTGGAA
 CCTGGAACCTTCGATCTTGGGGGGGCTATATGAAGCAATTGAGGAGTGCCT
 GATTAAACGATCCCTGGGTTTTGCTTAATGCGTCTTGGTTCAACTCCTTCCT
 CACACATGCACTGAAATAGTCGTGGCAATGCTACTATTTGCTATCCATAC
 TGTCCAAAAA

> OP740959 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/HA/2020 (H5N8))
 segment 4 hemagglutinin (HA) gene, complete cds

AGCAAAAGCAGGGGTTCACTCTGTCAAAATGGAGAACATAGTACTTC
 TTCTTGCAATAGTTAGCCTTGTTAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACC
 ATGCAAACAATTCGACAGAGCAAGTTGACACGATAATGGAAAAGAACGT
 CACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAAACACACAACGGGAAG
 CTCTGTGATCTAAATGGGGTGAAGCCTCTGATTTTAAAGGATTGTAGTGT
 AGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGCGACGAATTCATCAGAGTGC
 CGGAATGGTCCTACATAGTGGAGAGGGCTAAACCAGCTAATGACCTCTGT
 TACCCAGGGAGCCTCAATGACTATGAAGAACTGAAACACCTGTTGAGCA
 GAATAAATCATTTTGAGAAGATTCTGATCATCCCCAAGAGTTCCTGGTCC
 AATCATGAAACATCACTAGGGGTGAGCGCAGCTTGTCCATACCAGGGAG
 CGCCCTCCTTTTTTCAGAAATGTGGTGTGGCTTATCAAAAAGAACGATGCA
 TACCCAACAATAAAGATAAGCTACAATAATACCAATCGGGAAGATCTCTT
 GATACTGTGGGGGATTTCATCATTCCAACAATGCAGAAGAGCAGACAAAT
 CTCTATAAAAACCCAACCACTACATTTTCAGTTGGAACATCAACTTTAAA
 CCAGAGGTTGGTACCAAAAATAGCTACTAGATCCCAAGTAAACGGGCAA
 CGTGGAAGAATGGACTTCTTCTGGACAATTTTAAAACCGGATGATGCAAT
 CCATTTTCGAGAGTAATGGAAATTTTCATTGCTCCAGAATATGCATACAAAA
 TTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATTATGAAAAGTGGAGTGGAATATGG
 CCACTGCAACACCAAATGTCAAACCCAGTAGGAGCGATAAATTCTAGTA
 TGCCATTCCACAACATACATCCTCTCACCATTGGGGGAATGTCCCAAATAC
 GTGAAGTCAAACAAGTTGGTCCTTGCGACTGGGCTCAGAAATAGTCCTCT
 AAGAGAAAAGAGAAGAAAAAGAGGCCTGTTTGGGGCGATAGCAGGGTTT

ATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTTGATGGTTGGTATGGGTACCACC
ATAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACCCA
AAAGGCAATAGATGGAGTTACCAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAA
ATGAACACTCAATTTGAGGCAGTTGGAAGGGAGTTTAATAACTTAGAAAG
GAGGATAGAGAATTTGAACAAGAAAATGGAAGACGGATTCCTAGATGTC
TGGACCTATAATGCTGAACTTCTAGTTCTCATGGAAAACGAGAGGACTCT
AGATTTCCATGATTCGAATGTCAAGAACCTTTACGACAAAGTCAGACTGC
AGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAAACGGCTGTTTCGAATTCTAT
CACAAATGCGATAATGAATGTATGGAAAGTGTGAGAAATGGGACGTATG
ACTACCCTCAGTATTCAGAAGAAGCAAGATTAAAAAGAGAAGAAATAAG
CGGAGTGAAATTAGAATCAATAGGAACTTACCAGATACTGTCAATTTATT
CAACAGCGGCGAGTTCCCTAGCACTGGCAATCATGATGGCTGGTCTATCT
TTATGGATGTGCTCCAATGGGTTCGTTACAGTGCAGAATTTGCATTTAAATT
TGTGA

> OP740952 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/NP/2020 (H5N8))
segment 5 nucleocapsid protein (NP) gene, partial cds.

AGCAAAAGCAGGGTAGATAATCACTCACTGAGTGACATCAACATCAT
GGCGTCTCAAGGCACCAAACGATCTTATGAACAGATGGAAACTGGTGGG
GAGCGCCAGAATGCCACTGAGATTAGAGCATCGGTTGGAAGAATGGTTG
GTGGAATTGGGAGGTTCTACATACAGATGTGCACTGAGCTCAAACCTCAGC
GACTATGAAGGAAGACTGATCCAGAACAGCATAACAATAGAGAGAATGG
TTCTCTCCGCATTTGATGAAAGGAGAAACAAATATCTGGAAGAACATCCC
AGTGCGGGGAAAGACCCGAAGAAAACAGGAGGTCCAATTTATCGAAGGA
GAGATGGGAAATGGGTGAGAGAGCTGATCCTGTATGACAAAGAGGAGAT
CAGGAGGATCTGGCGCCAAGCGAATAATGGAGAAGACGCAACTGCTGGT
CTCACTCACCTGATGATCTGGCATTCCAATCTAAATGATGCCACATACCA
GAGGACAAGAGCCCTCGTGCGTACCGGTATGGACCCCAGGATGTGCTCCC
TCATGCAAGGGTCAACTCTCCCAAGGAGGTCTGGAGCTGCTGGTGCAGCA
GTGAAGGGAGTTGGAACGATGGTGATGGAACATAATTTCGGATGATAAAGC
GAGGAGTTAATGATCGAACTTCTGGAGAGGCGAGAATGGACGGAGGAC
AAGGATTGCATTTGAGAGAATGTGCAATATTCTCAAAGGGAAATTCCAAA
CAGCAGCACAAAGAGCAATGATGGATCAAGTGCGTGAAAGCAGGAATCC
TGGCAATGCTGAAATTGAAGATCTCATTTTTCTGGCGCGGTCTGCTCTCAT
TCTTAGAGGATCAGTGGCCCATAAGTCCTGCTTGCCCGCTTGTGTATACG
GGCTCGCTGTAGCCAGTGGATACGACTTTGAGAGAGAAGGGTACTCTCTA
GTTGGAATAGACCCTTTCCGACTGCTTCAAAACAGCCAGGTCATTAGTCT
CATTAGACCAAATGAGAATCCGGCACACAAGAGTCAATTGGTGTGGATG
GCATGTCATTCTGCAGCATTCTGAGGATCTGAGAGTCTCAAGTTTCATCAG
AGGAACAAGAGTAGTCCCAAGAGGACAACTATCCACTAGAGGAGTTCAA
ATTGCTTCAAATGAGAACATAGAAACAATGGACTCCAGCACTCTTGAAC
GAGAAGCAGATATTGGGCTATAAGAACCAGGAGTGGAGGAAACACCAAC
CAACAGAGAGCATCTGCAGGACAAATCAGTGTACAGCCCACTTTCTCGGT
ACAGAGAAACCTTCCCTTCGAAAGAGCGACCATTATGGCGGCATTACAG

GGAACACTGAAGGCAGAACGTCCGACATGAGGACTGAAATCATAAGAAT
GATGGAAAGTGCCAGACCAGAAGATGTGTCTTTCCAGGGGCGGGGAGTC
TTCGAGCTCTCGGACGAAAAGGCAACGAACCCGATCGTGCCTTCCTTTGA
CATGAGTAATGAAGGATCTTATTTCTTCGGAGACAATGCAGAGGAGTATG

> OP740954 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/NA-6/2020 (H5N8)) segment 6 neuraminidase (NA) gene, complete cds

ATGAATCCAAATCAGAAAATAGCGACCATTGGCTCCATCTCATTGGG
ACTAGTTGTATTCAATGTTCTACTGCATGCCTTGAGCATCATATTAATGGT
GTTAGCCCTGGGGAAAAGTGAAAACAATGGAATCTGCAAGGGAACATA
GTAAGGGAATATAATGAAACAGTTAGAATAGAGAAAGTGACCCAGTGGT
ACAACACTAGTGTAGTTGAATATGTACCGCATTGGAACGAGGGCGCTTAT
ATAAACAAACACCGAACCAATATGTGATGTCAAGGGCTTTGCACCTTTTTC
CAAGGACAACGGAATAAGAATTGGCTCCAGAGGACATATTTTTGTCATAA
GGGAGCCTTTTCGTCTCTTGTTACCTGTAGAGTGCAGAACTTTCTTCCTCA
CTCAGGGAGCTCTACTCAATGACAAACACTCAAATGGAACAGTGAAGGA
TAGGAGCCCATTTCAGAACTCTCATGAGTGTGCAAGTGGGTCAATCACCCA
ATGTGTATCAAGCAAGGTTTGAAGCTGTAGCATGGTCAGCAACAGCCTGT
CATGATGGTAAGAAATGGATGACGATTGGTGTGACAGGGCCAGATTTCGA
AAGCAATAGCAGTAGTCCATTACGGAGGAGTGCCTACTGATATTGTTAAC
TCCTGGGCAGGAGACATATTACGGACTCAGGAGTCATCTTGTACTTGCAT
TCAAGGTAATTGTTATTGGGTAATGACTGACGGTCCATCCAATAGACAGG
CGCAGTATAGAATTTACAAAGCAAATCAAGGCAAAATAATTGACCAAGC
AGACGTCAGCTTTAGTGGAGGGCATATTGAGGAATGCTCTTGTATCCAA
ATGATGGTAAAGTGGAATGCGTGTGTAGAGACAACCTGGATGGGAACTAA
CAGGCCTGTGCTAGTTATCTCGCCTGACCTCTCTTACAGGGTTGGGTATTT
ATGTGCGGGGTTGCCCAGTGACACTCCAAGAGGGGAAGATGCCCAATTTG
TCGGTTCGTGCACTAGTCCCATGGGAAATCAGGGGTATGGCGTAAAAGGT
TTCCGGTTTCGACAGGGAACTGATGTGTGGATGGGGCGGACAATTAGTCG
AACCTCCAGGTCAGGGTTTGAATAATAAGGATAAAGAATGGTTGGACG
CAGACAAGCAAAGAACAGATTAGAAGGCAGGTGGTTGTTGATAATTTGA
ATTGGTCGGGATACAGTGGGTCTTTCACCTTACCAGTAGAATTGTCTGGG
AGGGAATGTTTAGTCCCCTGTTTTTGGGTGCAAATGATCAGAGGCAGGCC
AGAAGAAAGAACAATCTGGACCTCTAGTAGCTCCATTGTAATGTGTGGAG
TTGATCATGAAATTGCCGATTGGTCATGGCACGATGGAGCTATTCTTCCCT
TTAACATCGATGGGATGTAATTTACGGAAAAAACTCCTTGTTTCTACT

> OP740953 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/M-gene/2020 (H5N8)) segment 7 matrix protein 2 (M2) gene, partial cds; and matrix protein 1 (M1) gene, complete cds

ATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTACGTTCTCTCTATCGTCCCG
TCAGGCCCCCTCAAAGCCGAGATCGCGCAGAGACTTGAAGATGTCTTTGC
AGGGAAGAACACCGATCTTGAGGCTCTCATGGAATGGCTAAAGACAAGA
CCAATCCTGTCACCTCTGACTAAGGGGATTTTGGGATTTGTGTTACGCTC

ACCGTGCCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCGTAGACGCTTTGTACAAAATGCTCTAAATGGAAATGGAGACCCAAACAACATGGACAGGGCAGTCAAAGTGTACAGGAAATTGAAGAGAGAGATAACATTCCATGGGGCTAAAGAAGTTGCACTCAKTTACTCAACCGGCGCACTTGCCAGTTGTATGGGTCTCATATAC AACAGGATGGGGACGGTGACCGCAGAAGTGGCATTGGGCCTAGTGTGTGCCACCTGTGAGCAGATTGCTGATTCACAGCATCGGTCTCACAGACAGATAGCAACCACCACCAACCCACTAATCAGACATGAAAACAGAATGGTGTGGCCAGTACTACAGCTAAGGCTATGGAGCAGATGGCTGGATCGAGTGAGCAAGCAGCGGAAGCCATGGAAGTTGCTAGTCAGGCTAGGCAGATGGTGCAGGCGATGAGGACCATTGGAATCATCCTAGCTCCAGTGCCGGTCTGAGAGATGATCTCCTTGAAAATTTGCAGGCCTACCAAAAACGGATGGGAGTGCAAC TGCAGCGATTCAAGTGATCCTCTCGTTATTGCCGCAAGTATCATTGGGATCTTGCACCTTGATATTGTGGATTCTTGATCGCCTTTTCTTCAAATGCGTTTATC GTCGCCTTAAATACGGTTTGAAAAGAGGGCCTTCTACGGAAGGAGTACCTGAGTCCATGAGGGAAGAGTACCGGCAGGAACAGCAGAGTGCTGTGGATG TTGACGATGGTCATTTTGTCAACATAGAGCT

> OP740956 Influenza A virus (A/Chicken/North Kazakhstan/NS/2020 (H5N8)) segment 8 nuclear export protein (NEP) gene, partial cds; and nonstructural protein 1 (NS1) gene, complete cds

AGCAAAAGCAGGGTGACAAAAACATAATGGATCCCAACACTATGTTAAGCTTTCAGGTAGACTGTTTTCTTTGGTATGTCCGCAAACGATTCGCAGACCAAGAACTGGGTGATGCCCCCTTTCCTTGACCGGCTTCGCCGAGATCAGAGTCTTTAAGAGGAAGAGGCACCACTCTTGGTCTGAGCATCGAAGCAGCTACTCGTGAGGGAAAGCAGATAGTGAAGCGAATTCTGAAGGAAGAGTCTGATGAGGCACTTAAAATGACTGTTGCTTCAGGTCCGTCTTCACGCTACCTA ACTGATATGACTCTTGAAGAAATGTCAAGGGACTGGTTCATGCTCATGCCCAAACGGAAAGTGGCAGGTCCACTTTGCATCAAAATGGACCAGGCAATAATGGATAAAAACATCATATTGAAAGCAAACCTTCAGTGTAATTTTCAACCGGCTGGAAGCTCTAATACTACTTTCGAGCTTTCACAGAAGAAGGAGCAATTGTGGGAGAAATCTCACCGTTACCTTCTTTTCCAGGACATACTGATGAGGATGTCAAAAATGCAATTGGGGTCTCATCGGAGGGCTTGAATGGAATAATAACACAGTTCGGGTCTCTGAAACTCTACAGAGATTTCGCTTGGAGAAACAGTGATGAGGATGGGAGACCTTCACTCCCTCCAAAGTAGAAACGGAAAATGGCGAGAACAATTGGGTCAGAAGTTTGAAGAAATAAGATGGCTGATTGAAGAAGTGCGACATAGACTGAAGATTACAGAAAATAGCTTCGAACAGATAACGTTTATGCAAGCCTTACAACCTATTGCTTGAAGTGGAACAAGAGATAAGAAC TTTCT