

УДК 577.212.063.8:578.832.1(574)

**А.С. МУТАЛИЕВА<sup>1</sup>, Г.Е. НУСУПБАЕВА<sup>1</sup>, А.Б. КОМИССАРОВ<sup>2</sup>, Д.М. АМАНДОСОВА<sup>1</sup>,  
Н.Ж. ТЛЕУМБЕТОВА<sup>1</sup>, А.Ж. КУЛЖАБАЕВА<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Национальная референс-лаборатория по контролю за вирусными инфекциями РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КЗПП МНЭ РК, г. Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения России, г. Санкт-Петербург, Россия

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИДЕМИЧЕСКИХ ШТАММОВ ВИРУСОВ ГРИППА А/Н3N2 И В, ВЫДЕЛЕННЫХ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2014-2015 ГГ. НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН



Муталиева А.С.

Внедрение молекулярно-генетических методов (секвенирование) изучения вирусов гриппа в лабораторную практику позволяет производить эффективный мониторинг циркулирующих вирусов, прогнозировать эффективность вакцинопрофилактики и лечения с помощью этиотропных препаратов. С этой целью нами были проанализированы последовательности гена гемагглютинаина (НА) 4-х штаммов вируса гриппа А/Н3N2 и 5-и штаммов вируса гриппа В Ямагатской линии.

**Материал и методы.** В работе были использованы эпидемические штаммы вируса гриппа А/Н3N2(А/Semey/164/2015, А/Taraz/161/2015, А/Taraz/169/2014, А/Taraz/170/2014) и В (В/Ural'sk/155/2015, В/Ural'sk/156/2015, В/Karaganda/157/2015, В/Petropavlovsk/158/2015, Karaganda/159/2015), выделенных в эпидемический сезон 2014/2015 гг. Проведены капиллярное секвенирование полноразмерных последовательностей гемагглютинаина вирусов гриппа с помощью автоматического генетического анализатора ABI GA3500 (Applied Biosystems, США) и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей и анализ соответствующих им аминокислотных последовательностей генов НА.

**Результаты и обсуждение.** В данной работе представлены результаты молекулярно-генетического анализа штаммов вируса гриппа А/Н3N2 и В, выделенных в эпидемический сезон 2014/2015 гг. на территории РК. Молекулярно-генетический анализ показал, что эволюционная изменчивость вируса гриппа А/Н3N2 и В сопровождалась последовательной сменой генетических клайдов и аминокислотными заменами в НА, которые повлияли на антигенные свойства штаммов. Определены специфические замены в НА (А/Н3N2-S124N, R261Q, K264E, A530G, S159F, A212S, I230K; В-V558I) казахстанских штаммов, которые не встречались у штаммов, циркулировавших в других странах мира.

**Выводы.** Было установлено, что все исследованные штаммы вируса гриппа А/Н3N2 и В значительно отличались от вакцинного штамма, рекомендованного Всемирной организацией здравоохранения на 2014-2015 гг. для северного полушария. В то же время все исследованные штаммы по принадлежности к генетическим клайдам и группам соответствуют рекомендациям ВОЗ по составу гриппозных вакцин на 2015-2016 гг. для северного полушария. Нуклеотидные последовательности генов, кодирующих НА вирусов гриппа А/Н3N2 и В, были депонированы в международную базу данных EpiFlu GISAID.

**Ключевые слова:** эпидемические штаммы вируса гриппа А и В, гемагглютинин, секвенирование, молекулярно-генетический анализ.

**В**ирусы гриппа А и В вызывают особое беспокойство в связи с ежегодными эпидемиями. Высокая изменчивость вирусов гриппа А и В связана с эволюционными изменениями в двух основных гликопротеинах: гемагглютинине (НА) и нейраминидазе (НА) [1]. Выраженная изменчивость вирусов гриппа затрудняет создание эффективных противогриппозных

средств и делает прогнозирование гриппозных эпидемий труднопредсказуемым [2]. Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вирусов гриппа позволяет определить основные тенденции изменчивости вирусов гриппа, что чрезвычайно важно для прогнозирования будущих эпидемий, разработки противогриппозных вакцин и определения тактики лечения гриппа.

**Контакты:** Муталиева Акнур Сапаралиевна, врач-вирусолог Национальной референс-лаборатории по контролю за вирусными инфекциями РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КЗПП МНЭ РК, г. Алматы. Тел.: + 7 775 220 57 45, +7 727 375 45 33, e-mail: aknyr.kz@mail.ru

**Contacts:** Aknur Saparalievna Mutalievna, doctor virologist of National reference laboratory for the control of viral infections «Scientific Practical Center of sanitary-epidemiological expertise and monitoring» CCP of MNE RK, Almaty, Kazakhstan, Almaty c. Ph.: + 7 775 220 57 45, +7 727 375 45 33, e-mail: aknyr.kz@mail.ru

Одним из важных направлений в борьбе с гриппозной инфекцией являются развитие и внедрение молекулярно-генетических методов (секвенирование) изучения структуры свойств белков вирусов гриппа, что способствует более полному пониманию механизмов их эволюционной изменчивости. Внедрение этих методов в лабораторную практику позволяет в определенной степени предупредить возможный ущерб, а также оценить эффективность вакцинопрофилактики и лечения с помощью этиотропных препаратов. Работа Национальной референс-лаборатории по контролю за вирусными инфекциями (далее НРЛ), функционирующей на базе РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» КЗПП МНЭ РК, признанную ВОЗ в 2006 г. одним из участников Глобальной сети надзора за гриппом (GISN) и как Национальный центр гриппа (НЦГ) в Казахстане направлена на улучшение лабораторной диагностики и мониторинга вирусов гриппа А и В в Казахстане, с помощью изучения их молекулярно-генетических характеристик и особенностей их эволюционной изменчивости.

С этой целью в НРЛ проведены капиллярное секвенирование эпидемических штаммов вируса гриппа, и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей и анализ соответствующих им аминокислотных последовательностей генов НА штаммов вируса гриппа А/Н3N2 и В, циркулировавших на территории РК за 2014-2015 гг.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

**Вирусы.** В работе были использованы эпидемические штаммы вируса гриппа А/Н3N2 и В, выделенные в эпидемический сезон 2014/2015 гг. (табл. 1).

**Выделение вирусной РНК** проводили с помощью коммерческого набора Pure Link RNA Mini Kit (Life Technologies, США) согласно инструкции изготовителя.

**ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ/ПЦР)** проводили с использованием праймеров, предоставленных Национальным центром по гриппу при НИИ гриппа Минздрава

России, коммерческих наборов AgPath-IDRT-PCRKit (Ambion, США) и SuperScript® III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNAPolymerase (Life Technologies, США) на термоциклере Veriti (Applied Biosystems, США).

**Электрофорез ДНК** проводили, используя коммерческий комплект реагентов для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле «ЭФ»-200 (Ампли Сенс, Россия) в 1,7% агарозном геле с трис-боратным буфером концентрированного с бромидом этидия [3].

**Для выделения ДНК из геля** использовали коммерческий набор QI Aquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия), а для чистых фрагментов при электрофорезе использовали коммерческий набор Pure Link PCR Purification Kit (Life Technologies, США).

**Секвенирование** полноразмерных сегментов генома вируса гриппа осуществляли на автоматическом генетическом анализаторе ABIGA 3500 (Applied Biosystems, США) с помощью коммерческого набора Big Dye Terminator Kitv3.1 (Applied Biosystems, США).

**Очистка продуктов секвенирования** осуществлялась набором Big Dye XTerminator Kit (Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией производителя.

**Филогенетический анализ.** Анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей, множественное выравнивание проводили с использованием программного обеспечения MEGA6 [4]. Построение филогенетического дерева осуществляли с помощью метода максимального правдоподобия (ML) в реализации пакетаMEGA6, используя последовательности гена НА актуальных вакцинных штаммов и референс-штаммов филогенетических групп и подгрупп вируса гриппа А/Н3N2 и В из международной базы данных EpiFlu GISAID (<http://platform.gisaid.org>).

Изображение трехмерной структуры молекулы гемагглютинина было получено с использованием программного обеспечения UCSF Chimera v.1.9 с на основе модели 4O5I (RCSB Protein Data Bank).

Таблица 1 – Наименование штаммов, включенных в анализ

П/н	Название штамма	ID номер в базе данных GISAID	Дата сбора материала	Возраст, лет	Пол	Регион
1	A/Semey/164/2015	EPI_ISL_179630	2015-02-09	15	Муж	Восточно-Казахстанская область (г. Семей)
2	A/Taraz/161/2015	EPI_ISL_179421	2015-01-16	29	Жен	Жамбылская область (г. Тараз)
3	A/Taraz/169/2014	EPI_ISL_179405	2014-12-22	24	Жен	Жамбылская область (г. Тараз)
4	A/Taraz/170/2014	EPI_ISL_179629	2014-12-23	25	Жен	Жамбылская область (г. Тараз)
5	B/Ural'sk/155/2015	EPI_ISL_191453	2015-02-13	27	Жен	Западно-Казахстанская область (г. Уральск)
6	B/Ural'sk/156/2015	EPI_ISL_191454	2015-02-16	34	Жен	Западно-Казахстанская область (г. Уральск)
7	B/Petropavlovsk/158/2015	EPI_ISL_191457	2015-02-13	72	Муж	Северо-Казахстанская область (г. Петропавловск)
8	B/Karaganda/157/2015	EPI_ISL_191455	2015-02-11	35	Жен	Карагандинская область (г. Караганда)
9	B/Karaganda/159/2015	EPI_ISL_191456	2015-03-11	34	Жен	Карагандинская область (г. Караганда)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Секвенирование нуклеотидных последовательностей проводилось на базе НРЛ. Для исследования были выбраны четыре эпидемических штамма вируса гриппа А/Н3N2 и пять штаммов вируса гриппа В, выделенных в разных городах Казахстана в период 2014-2015 гг. Подбор штаммов для исследования проводился по дате сбора и географическому распределению, с учетом охвата регионов, расположенных в южной, северной, западной, восточной и центральной частях территории республики.

Филогенетический анализ по гену НА 4-х штаммов вируса гриппа А/Н3N2 определил их принадлежность к генетической группе 3С.3а (А/Switzerland/9715293/2013) с характерными заменами N225D, F159S, K326R, A138S, T128A, R142G, N145S [5], тогда как другие казахстанские штаммы, выделенные в первой половине января 2015 года, секвенированные на базе Центра по контролю за вирусными инфекциями (Атланта, США), принадлежали к генетической группе 3С.2а (А/HongKong/5738/2014) (рис. 1).

Все исследованные штаммы А/Н3N2 несут замену T128A, приводящую к утрате потенциального сайта гликозилирования в положении 126 гемагглютинина. (рис. 2). В экспериментах *in vitro* показано, что потеря сайта гликозилирования в 126 положении приводит к 8-кратному снижению способности рекомбинантного белка сурфактанта D (SP-D) нейтрализовать НА [6]. Таким образом, можно предположить, что вирусы с заменой T128A в НА должны быть более устойчивы к нейтрализации коллектинами легких [6]. Следует отметить, что штаммы с заменой T128A имеют также замену R142G в антигенном сайте А. Кроме того, у штаммов А/Taraz/161/2015, А/Taraz/170/2014 найдена аминокислотная замена S124N в антигенном сайте А, сопряженная с потерей потенциального сайта гликозилирования (рис. 2). Утрата потенциального сайта гликозилирования в антигенном сайте А штаммов А/Taraz/161/2015, А/Taraz/170/2014 и А/Kazakhstan/15/2015 может привести к существенным отличиям в антигенных свойствах от вакцинного штамма А/Switzerland/9715293/2013, у которого сайт гликозилирования сохранен. Мутация S124N с утратой потенциального сайта гликозилирования ранее была отмечена у ряда штаммов клада 3.С2, циркулировавших на территории США в эпидемический сезон 2012/2013 года, однако, тогда это не привело к существенному изменению их антигенных свойств [7].

Анализ последовательностей гемагглютинина штаммов А/Astana/845/2014, А/Kazakhstan/3782/2014, А/Kazakhstan/27/2015, А/Kazakhstan/26/2015, А/Kazakhstan/35/2015, А/Kazakhstan/38/2015 свидетельствует о появлении замены Y94H в антигенном сайте Е.

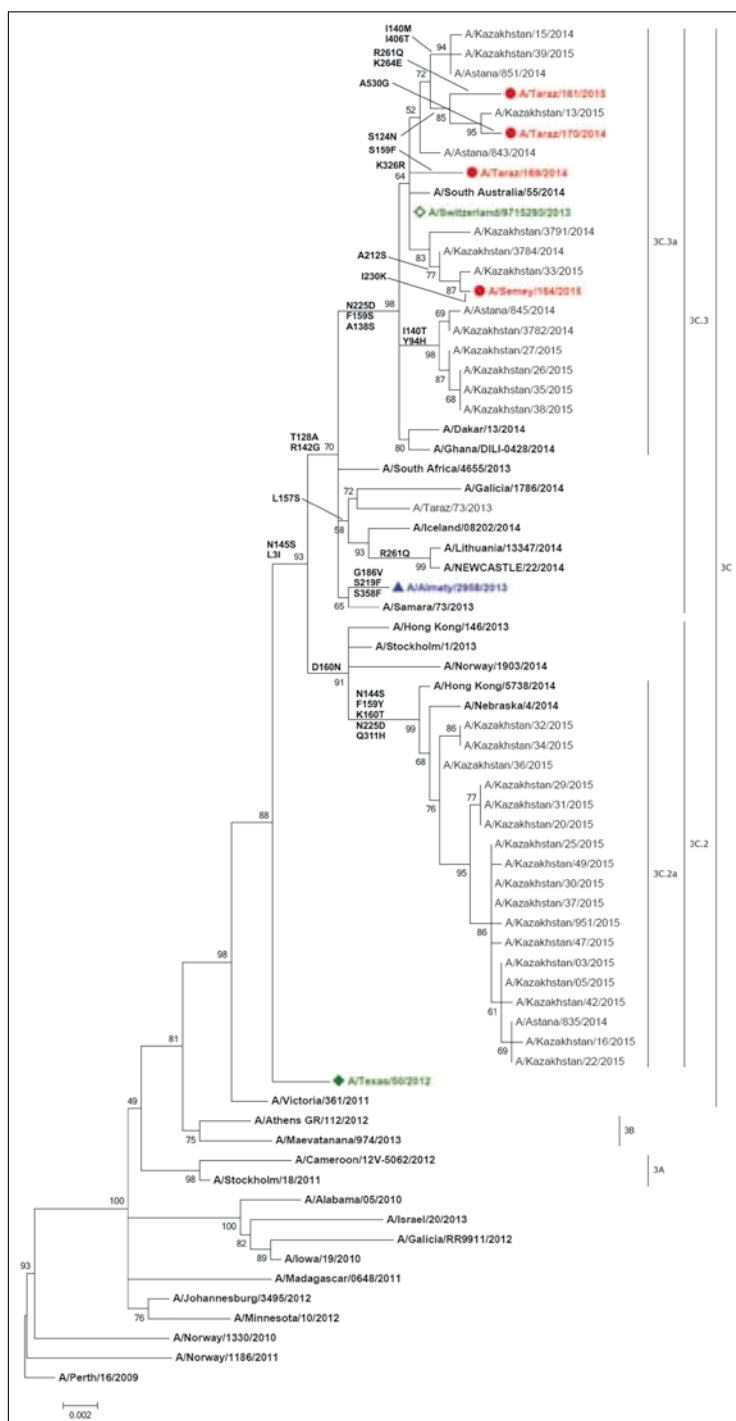


Рисунок 1 – Филогенетическое дерево по гену гемагглютинина вирусов гриппа А/Н3N2 (метод ML, модель НКУ+G, бутстреп – 500 репликаций)

Символом «◆» отмечен вакцинный штамм, рекомендованный ВОЗ в качестве вакцинного на сезон 2014-2015 гг. для северного полушария, символом «◇» отмечен вакцинный штамм, рекомендованный ВОЗ в качестве вакцинного на сезон 2015-2016 гг. для северного полушария, символом «●» – вирусы эпидемического сезона 2014/2015, секвенированные в НРЛ, символом «▲» отмечен кандидатный вакцинный штамм, выбранный для производства вакцин в северном полушарии в эпидсезон 2014-2015 гг. (по информации ЕРБ ВОЗ), полужирным черным цветом отмечены референс-штаммы филогенетических групп и подгрупп. Над ветвями филогенетического дерева указаны аминокислотные замены.

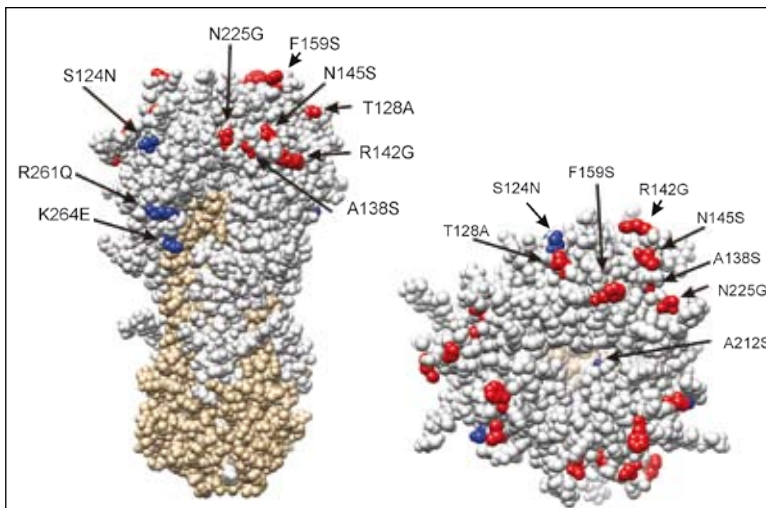


Рисунок 2 – Аминокислотные замены в гемагглютинине исследованных вирусов гриппа А/Н3N2. Красным отмечены замены, характерные для генетической группы 3С.3а, синим выделены замены, уникальные для казахстанских штаммов

Филогенетический анализ по гену НА пяти штаммов вируса гриппа В, секвенированных в НРЛ, показал, что все они относились к Ямагатской линии В/Phuket/3073/2013 подобным штаммам и принадлежат к клайду 3 с характерными аминокислотными заменами в НА-L172Q, K298E, E312K, N202S, N116K (в антигенном сайте BC), T181A (рис. 3). Так же все исследованные штаммы имеют замены N165Y в антигенных сайтах BB2 и S150I-BA, характерными для клайда 2. Кроме того, анализ аминокислотных выравниваний показал, что из всех исследованных штаммов только у штамма В/Karaganda/157/2015 найдена аминокислотная замена V558I, функциональное значение которой неизвестно.

Постоянные изменения в структуре вируса гриппа требуют проведения подробного антигенного и генетического анализа циркулирующих сезонных вирусов гриппа для ежегодного обновления состава вакцин против гриппа. Принимая во внимание имевшиеся на тот момент эпидемиологические и лабораторные данные из отдельных стран и регионов, ВОЗ на 2014-2015 гг. рекомендовала в качестве вакцинных штаммов А/California/07/2009 (H1N1pdm09), А/Texas/50/2012 (H3N2) и В/Massachusetts/2/2012.

По результатам генетического анализа по гену НА вирусов гриппа А/Н3N2 и В, нами определены существенные отличия исследованных штаммов от вакцинного штамма А/Texas/50/2012 (H3N2), что согласуется с данными литературы [8, 9]. Этими отличиями обусловлено снижение эффективности вакцинации, ставшее предметом обеспокоенности

врачей и общественности в минувшем эпидемическом сезоне.

Так как производство вакцин занимает значительное время, выбор вакцинного штамма происходит задолго до начала эпидемического сезона на основании имеющихся данных о распространенности тех или иных генетических клайдов и антигенных групп вирусов гриппа. Одним из решающих факторов в успешности этого выбора является полнота молекулярно-генетических данных о циркулирующих вирусах. Внедрение Национальной референс-

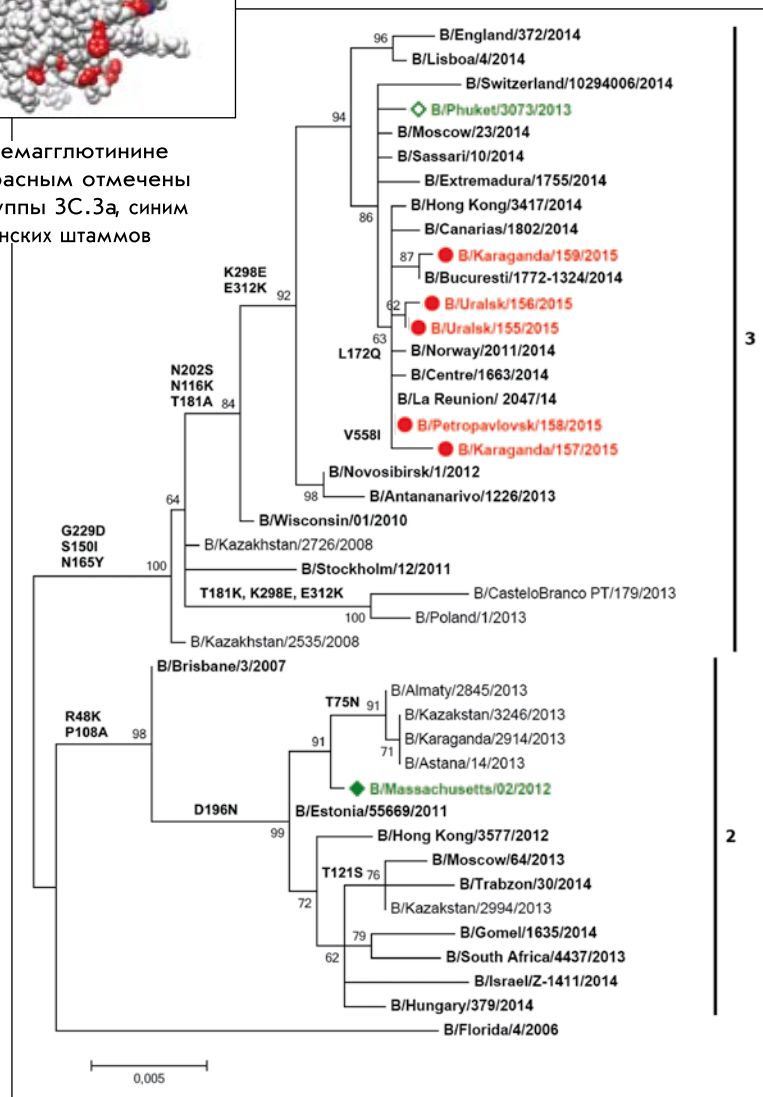


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево гриппа В Ямагатской линии по гену НА (метод ML, модель T92+G, бутстреп – 1000 репликаций) Символом «◆» отмечен вакцинный штамм, рекомендованный ВОЗ в качестве вакцинного на сезон 2014/2015 гг. для северного полушария, символом «◇» отмечен вакцинный штамм, рекомендованный ВОЗ в качестве вакцинного на сезон 2015–2016 гг. для северного полушария, символом «●» – вирусы эпидемического сезона 2014/2015, секвенированные в НРЛ, полужирным черным цветом отмечены референс-штаммы филогенетических групп и подгрупп. Над ветвями филогенетического дерева указаны аминокислотные замены.

лабораторией методов секвенирования в надзоре за вирусами гриппа, циркулирующими на территории Республики Казахстан, внесет значительный вклад в работу Глобальной системы эпиднадзора за гриппом и принятия ответных мер (ГСЭГО) в Средней Азии.

**ВЫВОДЫ**

Филогенетический анализ секвенированных последовательностей, а также данных о казахстанских штаммах, депонированных в международной базе данных EpiFlu GISAID Сотрудничающим центром ВОЗ в Лондоне (Великобритания) и Центром по контролю за вирусными инфекциями в Атланте (США), позволяет сделать вывод о совместной циркуляции штаммов вирусов гриппа А/Н3N2, принадлежащих филогенетическим группам 3С.3 (подгруппе 3С.3а, А/Switzerland/9715293/2013-подобные штаммы) и 3С.2 (подгруппе 3С.2а, А/HongKong/5738/2014-подобные штаммы) в эпидемический сезон 2014/2015 гг. Штамм вируса гриппа А/Switzerland/9715293/2013 (Н3N2) был рекомендован ВОЗ в качестве вакцинного на сезон 2015/2016 гг. для северного полушария.

По данным филогенетического анализа эпидемических штаммов вируса гриппа В, секвенированных в НРЛ, можно сделать вывод, что все они принадлежат к клайду 3 – В/Phuket/3073/2013-подобным штаммам, рекомендованным Всемирной организацией здравоохранения в качестве вакцинного на сезон 2015/2016 гг. для северного полушария.

Таким образом, все исследованные штаммы были филогенетически близки к рекомендованным ВОЗ вакцинным штаммам. В то же время в НА ряда казахстанских штаммов вируса гриппа были обнаружены аминокислотные замены в антигенных сайтах А и Е, в том числе с потерей потенциальных сайтов гликозилирования. Внедрение в практику методов молекулярно-генетического надзора за циркулирующими штаммами вирусов гриппа в сочетании с оценкой вакцинной эффективности позволит в будущем прогнозировать тяжесть эпидемий гриппа в Республике Казахстан.

*Авторы статьи выражают благодарность специалисту отдела по защите здоровья, инфекционным заболеваниям и окружающей среде ЕРБ ВОЗ Перяеслову Д. за оказанную консультативную и методическую помощь, а также вирусологам Восточно-Казахстанской, Западно-Казахстанской, Жамбылской, Карагандинской и Северо-Казахстанской областей за предоставленные штаммы гриппа.*

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1 Gamblin S.J., Skehel J.J. Influenza hemagglutinin and neuraminidase membrane glycoproteins // J Biol Chem. – 2010. – Vol. 285. – P. 28403–28409  
 2 Кисилев О.И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. – СПб.:ООО «Издательство «Росток»», 2012. – 272 с.  
 3 Sambrook J., Russel D.W. Gel electrophoresis of DNA and Pulsed-field Agarose gel Electrophoresis. In: Press, editor. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Vol. 1. 3rd ed. – New York: CSHLP, 2001. – 5.1  
 4 Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiski A., and

Kumar S MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. – 2013. – Vol. 30. – P. 2725-2729

5 Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere 2015-2016 WIC London National Institute for Medical Research. 23-25 February 2015.

6 Hartshorn K.L., Webby R., White M.R., Tecle T., Pan C., Boucher S., Moreland R.J., Crouch E.C., Scheule R.K. Role of viral hemagglutinin glycosylation in anti-influenza activities of recombinant surfactant protein D // Respir Res. – 2008. – Vol. 9. – P. 65

7 Stucker K.M., Schobel S.A., Olsen R.J., Hodges H.L., Lin X., Halpin R.A., Fedorova N., Stockwell T.B., Tovchigrechko A., Das S.R., Wentworth D.E., Musser J.M. Haemagglutinin mutations and glycosylation changes shaped the 2012/13 influenza A (H3N2) epidemic, Houston, Texas // Eurosurveillance. – 2015. – Vol. 20(18). – pii=21122

8 WHO-Questions and Answers-Vaccine effectiveness estimates for seasonal influenza vaccines, February – 2015. [http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201502\\_qanda\\_vaccineeffectiveness.pdf](http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201502_qanda_vaccineeffectiveness.pdf)

9 Pebody R.G., Warburton F., Ellis J., Andrews N., Thompson C., Wissmann B., Green H.K, Cottrell S., Johnston J., Lusignan S., Moore C., Gunson R., Robertson C., McMenamin J., Zambon M. 05 February 2015. Low effectiveness of seasonal influenza vaccine in preventing laboratory-confirmed influenza in primary care in the United Kingdom: 2014/15 mid-season results. Rapid communications // Eurosurveillance. – 05 February 2015. – Vol. 20, Issue 5

**Т Ұ Ж Ы Р Ы М**

**А.С. МУТАЛИЕВА<sup>1</sup>, Г.Е. НҮСПАЕВА<sup>1</sup>,  
 А.Б. КОМИССАРОВ<sup>2</sup>, Д.М. АМАНДОСОВА<sup>1</sup>,  
 Н.Ж. ТЛЕУМБЕТОВА<sup>1</sup>, А.Ж. ҚҰЛЖАБАЕВА<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Вирусты жұқпаларды қадағалайтын ұлттық референс зертхана ШЖҚ РМК «Санитарлық эпидемиологиялық сараптама және мониторинг ғылыми практикалық орталығы» ҚР ҰЭМ ТҚҚК, Алматы қ., Қазақстан.

<sup>2</sup>Федералдық мемлекеттік мекемесі «Тұмау ғылыми-зерттеу институты» ДСМ РФ, Санкт-Петербург қ., Ресей Федерациясы

**2014-2015 ЖЖ. ЭПИДЕМИЯЛЫҚ МАУСЫМДА ҚАЗАҚСТАН-ДА БӨЛІНГЕН А/Н3N2 ЖӘНЕ В ТҰМАУЫНЫҢ ЭПИДЕМИЯЛЫҚ ШТАММДАРЫНЫҢ МОЛЕКУЛЯРЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ТАЛДАУЫ**

**Кіріспе.** Тұмау вирусын молекулярлық-генетикалық (секвенирлеу) зерттеу әдістерін зертханалық тәжірибеге ендіру, айналымдағы вирустардың тиімді мониторингін жүргізуге, екпемен алдын алудың тиімділігін болжамдауға және этиотропты препараттардың көмегімен емдеуге мүмкіндік береді. Осы мақсатта А/Н3N2 тұмауының – 4 және Ямагат желісі В тұмауының 5 штаммдарының гемагглютин (НА) генінің жүйесі талданды.

**Материал және әдістері.** Жұмыста 2014/2015 жж. эпидемиялық маусымда бөлінген тұмау вирусының эпидемиялық штаммдары А/Н3N2(А/Semey/164/2015, А/Taraz/161/2015, А/Taraz/169/2014, А/Taraz/170/2014) және В (В/Uralak/155/2015, В/Uralak/156/201, В/Karaganda/157/2015 қолданылды. ABI GA3500 (Applied Biosystems, АҚШ) автоматты генетикалық талдаушының көмегімен тұмау вирусының гемагглютинінің толық мөлшерлі жүйелерін капилярлы секвенирлеу және аиноқышқылдық жүйелердің филогенетикалық талдауы және

HA генінің оларға сәйкес келетін аміноқышқылдық жүйелердің талдауы жүргізілді.

**Нәтижелері және талқылауы.** Бұл жұмыста 2014-2015 жж. эпидемиялық маусымда Қазақстанда бөлінген A/H3N2 және B тұмауының эпидемиялық штамдарының молекулярлық-генетикалық талдаудың нәтижелері ұсынылған. Молекулярлық-генетикалық талдау A/H3N2 және B тұмауы вирусының эволюциялық өзгергіштігі, штамдардың антигендік қасиетіне әсер еткен HA аміноқышқылдық ауысулармен байланысты болған, антигендік клейдтардың жүйелі ауысуларымен қатар жүргенін көрсетті. Қазақстандық штамдардың HA әлемнің басқа елдерінің штамдарында кездеспеген арнайы ауысулары анықталды (A/H3N2-S124N, R261Q, K264E, A530G, S159F, A212S, I230K; B-V558I).

**Қорытынды.** Барлық зерттелген A/H3N2 и B тұмау вирусының штамдары ДДСҰ 2014-2015 жж. Солтүстік жартышарға ұсынған тұмау екпелерінің құрамына кіретін вакциналық штаммнан айырмашылығы көп екендігі анықталды. Сонымен қатар, зерттелген тұмау вирусының штамдары өзінің антигендік қасиеті және де генетикалық клейдтармен мен топтарға жатқызылуы бойынша 2015-2016 жж. ДДСҰ ұсынған тұмау екпелерінің құрамына сәйкес келетіндігі анықталды. A/H3N2 және B тұмауы вирусының HA генінің жүйесі халықаралық EpiFlu GISAID мәліметтер базасына депонирленді.

**Негізгі сөздер:** A және B тұмау вирусының эпидемиялық штамдары, гемагглютинин, секвенирлеу, молекулярлық-генетикалық талдау.

#### SUMMARY

A.S. MUTALIYEVA<sup>1</sup>, G.E. NUSSUPBAYEVA<sup>1</sup>,  
A.B. KOMISSAROV<sup>2</sup>, D.M. AMANDOSSOVA<sup>1</sup>,  
N.J. TLEUMBETOVA<sup>1</sup>, A.J. KULZHABAYEVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National reference laboratory for the control of viral infections «Scientific Practical Center of sanitary-epidemiological expertise and monitoring» CCP of MNE RK, Almaty, Kazakhstan, Almaty c.,

<sup>2</sup>Research Institute of Influenza, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg c., Russian Federation

#### MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF INFLUENZA A/H3N2 AND INFLUENZA B VIRUS STRAINS ISOLATED IN KAZAKHSTAN DURING 2014-2015 INFLUENZA SEASON

**Introduction.** Introduction of molecular genetic methods (sequencing) into influenza surveillance allows effective monitoring of circulating influenza strains, prediction of effectiveness of vaccination and antiviral treatment. We analyzed sequences of the hemagglutinin gene (HA) of 4 strains of influenza virus A/H3N2 and 5 influenza B (Yamagata) virus strains.

**Material and methods.** We studied influenza A/H3N2 virus strains (A/Semey/164/2015, A/Taraz/161/2015, A/Taraz/169/2014, A/Taraz/170/2014) and influenza B virus strains (B/Uralsk/155/2015, B/Uralsk/156/2015, B/Karaganda/157/2015, B/Petropavlovsk/158/2015, Karaganda/159/2015), isolated in 2014/2015 epidemic season. Capillary sequencing of full-length hemagglutinin gene using genetic analyzer ABI GA3500 (Applied Biosystems, USA) and phylogenetic analysis were conducted.

**Results and discussion.** This paper presents the results of molecular-genetic analysis of strains of influenza virus A/ H3N2 and influenza B isolated in the epidemic season 2014/2015 on the territory of the Republic of Kazakhstan. Analysis showed that the evolutionary variability of influenza virus A/H3N2 and B was driven by a succession of genetic clades, associated with antigenically-relevant amino acid substitutions in HA. Specific amino acid substitutions (influenza A/ H3N2 – S124N, R261Q, K264E, A530G, S159F, A212S, I230K; influenza B – V558I) in Kazakhstan strains that have not been observed in strains circulating in other countries, were identified.

**Conclusion.** It was found that all investigated strains of influenza A/H3N2 and influenza B were significantly different from the vaccine strain recommended by the World Health Organization for 2014-2015 for the Northern Hemisphere epidemic season. At the same time all studied strains belong to the same genetic groups as WHO recommended vaccine strains for 2015-2016 Northern hemisphere influenza season. The nucleotide sequences of HA genes of influenza A/H3N2 and influenza B viruses were submitted into EpiFlu GISAID international database.

**Key words:** epidemiological strains of influenza virus A and B, the haemagglutinin, sequencing, molecular genetic analysis.

Для ссылки: Муталиева А.С., Нусупбаева Г.Е., Комиссаров А.Б., Амандосова Д.М., Тлеумбетова Н.Ж., Кулжабаева А.Ж. Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вирусов гриппа A/H3N2 и B, выделенных в эпидемический сезон 2014-2015 гг. на территории РК // J. Medicine (Almaty). – 2016. – No 1 (163). – P. 28-33

Статья поступила в редакцию 09.12.2015 г.

Статья принята в печать 14.01.2016 г.