

**Онгарбаева Н.С.<sup>1,2\*</sup>, Кливлеева Н.Г.<sup>1</sup>, Сактаганов Н.Т.<sup>1</sup>,  
Қалқожаева М.Қ.<sup>1</sup>, Глебова Т.И.<sup>1</sup>, Лукманова Г.В.<sup>1</sup>, Баймухаметова А.М.<sup>1</sup>,  
Мустафин М.К.<sup>3</sup>, Ерденов Ш.Г.<sup>4</sup>, Мустафин Б.М.<sup>4</sup>,  
Оспанов Г.Х.<sup>5</sup>, Вебби Р.Дж.<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,  
Казахстан, г. Алматы, e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com

<sup>2</sup>Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

<sup>3</sup>Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова, Казахстан, г. Костанай

<sup>4</sup>Костанайская научно-исследовательская ветеринарная станция, Казахстан, г. Костанай

<sup>5</sup>Государственное учреждение «Территориальная Инспекция Абайского Района Комитета  
Ветеринарного Контроля и Надзора Министерства Сельского Хозяйства Республики Казахстан»,  
Казахстан, Карагандинская область

<sup>6</sup>Центр ВОЗ по изучению экологии гриппа животных и птиц,  
St. Jude Children's Research Hospital, USA, Tennessee, Memphis

## **ЦИРКУЛЯЦИЯ ВИРУСА ГРИППА В ПОПУЛЯЦИЯХ СВИНЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН (2018 – 2019 гг.)**

В 2018 – 2019 гг. в крестьянских животноводческих хозяйствах семи областей Республики Казахстан от свиней 2–6-месячного возраста собрано 1104 носоглоточных смывов и 39 сывороток крови.

Первичный скрининг 1104 проб в полимеразной цепной реакции показал, что генетический материал вируса гриппа А обнаружен в 26 биопробах (2,36% от общего числа обследованных свиней). При субтипировании РНК вирус гриппа А/Н1N1 идентифицирован в 1,45% проб, А/Н3N2 – в 0,54% случаев, А/Н1sw2009 – 0,36% образцах.

В результате вирусологических исследований из биологических проб на куриных эмбрионах выделено три изолята из Северо-Казахстанской области, идентифицированных в РТ-ПЦР, РТГА и РИНА как вирусы гриппа А/Н1N1.

В результате серологических исследований 39 сывороток крови в реакции торможения гемагглютинации установлено, что одна проба (2,56% от общего количества исследованных сывороток) оказалась положительной к вирусу гриппа А/swine/Iowa/15/30 (H<sub>sw</sub>1N1), титр антител составил 1:40. В трех сыворотках крови животных (7,69%) антитела в титрах 1:20–1:40 выявлены к вирусу гриппа А/California/04/09 (А/Н1N1pdm). К вирусу А/Panama/2007/99 (Н3N2) позитивными оказались девять сывороток крови (23,08%), с титрами антигемагглютининов 1:20–1:40. При иммуноферментном анализе 39 сывороток крови в шести образцах (15,38% – случаев от общего числа исследованных образцов) антитела выявлены к вирусу гриппа А/Н3N2.

Результаты, полученные при скрининге биопроб в полимеразной цепной реакции, в реакции торможения гемагглютинации и иммуноферментном анализе свидетельствуют о циркуляции вирусов гриппа А/Н1N1, А/Н3N2 и А/Н1sw2009 в популяциях свиней в Казахстане и необходимости дальнейших мониторинговых исследований возбудителей с целью своевременного выявления этиологического агента эпизоотии в животноводческих хозяйствах.

**Ключевые слова:** вирус, грипп, антиген, сыворотка, антитело, мониторинг, циркуляция.

Ongarbayeva N.S.<sup>1,2\*</sup>, Klivleyeva N.G.<sup>1</sup>, Saktaganov N.T.<sup>1</sup>,  
Kalkozhayeva M.K.<sup>1</sup>, Glebova T.I.<sup>1</sup>, Lukmanova G.V.<sup>1</sup>, Baimukhametova A.M.<sup>1</sup>,  
Mustafin M.K.<sup>3</sup>, Yerdenov Sh.G.<sup>4</sup>, Mustafin B.M.<sup>4</sup>, Ospanov G.Kh.<sup>5</sup>, Webby R.J.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>LLP Scientific Production Center for Microbiology and Virology,  
Kazakhstan, Almaty, e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com

<sup>2</sup>al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

<sup>3</sup>A. Baytursynov Kostanay State University, Kostanay

<sup>4</sup>Kostanay Research Veterinary Station, Kostanay

<sup>5</sup>Government agency «Abay District Territorial Inspection of the Committee of Veterinary Control and Supervision of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan», Kazakhstan, Karaganda region

<sup>6</sup>St Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

### **Influenza virus circulation in swine populations in various regions of the Republic of Kazakhstan (2018 – 2019)**

In 2018 – 2019, 1104 nasopharyngeal swabs and 39 blood serums were collected from 2-6- month-old swine in peasant livestock farms located in seven regions of the Republic of Kazakhstan.

Virological examination of 1104 samples in the polymerase chain reaction has resulted in the discovery of the genetic material of influenza A viruses in 26 biological samples (2.36% of the total number of examined swine). When subtyping RNA, influenza A/H1N1 virus was identified in 1.45% of samples, A/H3N2 in 0.54% of cases, A/H1sw2009 in 0.36% of samples.

As a result of virological studies, three isolates from the North Kazakhstan oblast have been obtained from biological samples in chicken embryos that were identified as influenza A/H1N1 viruses in RT-PCR, HAI and NAI assays.

Serological studies of 39 blood serums in the hemagglutination inhibition assay have established that one sample (2.56% of the total number of examined serums) was positive for influenza A swine/lova/15/30 (HSW1N1) virus, the antibody titer was 1:40. In three animal serums (7.69%), antibodies in the titers of 1:20-1:40 were detected against influenza A/California/04/09 virus (A/H1N1pdm). Nine serums (23.08%) were positive for A/Panama/2007/99(H3N2) virus with anti-hemagglutinin titers of 1:20-1:40.

An enzyme immunoassay of 39 serums in six samples (15.38% of cases from the total number of examined samples) has revealed antibodies against A/H3N2 influenza virus.

The results obtained during screening of biosamples in the polymerase chain reaction, hemagglutination inhibition assay, and enzyme immunoassay indicate the co-circulation of influenza viruses A/H1N, A/H3N2 and A/H1sw2009 in swine populations in Kazakhstan and the need for further monitoring studies of pathogens in order to timely detect the etiological agent of animal epizootic in livestock farms.

**Key words:** virus, influenza, antigen, serum, antibodies, monitoring, circulation.

Онгарбаева Н.С.<sup>1,2\*</sup>, Кливлеева Н.Г.<sup>1</sup>, Сактаганов Н.Т.<sup>1</sup>,  
Қалқожаева М.Қ.<sup>1</sup>, Глебова Т.И.<sup>1</sup>, Лукманова Г.В.<sup>1</sup>, Баймухаметова А.М.<sup>1</sup>,  
Мустафин М.К.<sup>3</sup>, Ерденев Ш.Г.<sup>4</sup>, Мустафин Б.М.<sup>4</sup>, Оспанов Г.Х.<sup>5</sup>, Вебби Р.Дж.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,  
Қазақстан, Алматы қ., e-mail: nuray.syrlybay@gmail.com

<sup>2</sup>Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

<sup>3</sup>А. Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті, Қазақстан, Қостанай қ.

<sup>4</sup>Қостанай ғылыми-зерттеу ветеринария станциясы, Қазақстан, Қостанай қ.

<sup>5</sup>«Қазақстан Республикасы ауыл шаруашылығы министрлігінің ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетінің Абай аудандық аумақтық инспекциясы» мемлекеттік мекемесі,  
Қазақстан, Қарағанды облысы

<sup>6</sup>Әулие Яһуда атындағы балалар зерттеу емханасы, АҚШ, Мемфис

### **Қазақстан Республикасының әртүрлі аумақтарындағы шошқа популяциясы арасындағы тұмау вирус айналымы (2018-2019 ж.)**

2018-2019 жылдар аралығында Қазақстан Республикасының жеті облысындағы шошқа шаруашылықтарындағы 2-6 айлық жануарлардан 1104 танау-мұрын сынамасы және 39 қан сарысуы жиналды.

1104 сынама полимераза тізбекті реакциясында вирусологиялық зерттеу кезінде 26 сынамада (2,36%) А тұмау вирусының генетикалық материалы анықталды. Субтиптеу кезінде А/Н1Н1 тұмау вирусы 1,45% сынамада, А/Н3Н2 тұмау вирусы 0,54% сынамада, ал А/Н1sw2009 тұмау вирусы 0,36% анықталды.

Вирусологиялық зерттеулер нәтижесінде Солтүстік-Қазақстаннан жиналған биосынамалардан, РТ-ПТР-ында, ГАТР және НБИР-ында А/Н1Н1 тұмау вирусы болып анықталған үш изолят тауық эмбриондарында бөлініп алынды.

39 қан сарысуын гемагглютинин тежеу реакциясында серологиялық зерттеу нәтижесінде бір (2,56%) сынама титрі 1:40 арақатынасында A/swine/Iova/15/30 (H<sub>sw</sub>1N1) тұмау вирусына оң нәтиже берсе, үш сынама (7,69%) қан сарысуында титрі 1:20-1:40 арақатынасындағы A/California/04/09 (A/H1N1pdm) тұмау вирусына оң нәтиже көрсетті. A/Panama/2007/99 (H3N2) тұмау вирусына титрі 1:20-1:40 арақатынасында 9 қан сарысуына оң нәтиже берді.

Қан сарысуларын иммуноферментті талдауда алты сынамада (15,38%) A/H3N2 тұмау вирусының антиденелері анықталды.

Биосынамалардан полимеразды тізбекті реакциясында, гемагглютинин тежеу реакциясында, сонымен қоса иммуноферментті талдауда алынған нәтижелер Қазақстандағы шошқа популяциясы айналымы A/H1N1, A/H3N2 және A/H1sw2009 тұмау вирустары болғандығын айқындайды және жануарлар арасындағы эпизоотияның этиологиялық агентін уақытылы анықтау үшін мониторинг зерттеулер жұмысын жүргізу керектігін көрсетеді.

**Түйін сөздер:** вирус, тұмау, антиген, қан сарысуы, антидене, мониторинг, айналым.

## Введение

Вирусы гриппа типа А являются уникальными среди возбудителей инфекционных заболеваний как людей, так и целого ряда млекопитающих (лошадей, свиней, китов, тюленей и т.д.) и птиц [1, 2], характеризуются высокой антигенной гетерогенностью поверхностных белков и представлены, согласно номенклатуре, 18 подтипами гемагглютинина (HA1-HA18) и 11 нейраминидазы (NA1- NA11). Подтипы вирусов с 16 известными сочетаниями поверхностных белков выделены только от диких птиц водного и околоводного комплексов (уток, чаек и т.д.), являющихся их природным резервуаром. Среди других животных циркулируют лишь вирусы с определенным набором поверхностных белков.

Вирусы гриппа являются широко распространенным и эпидемиологически значимыми возбудителями респираторного заболевания у свиней. Грипп свиней (инфлюэнца свиней, энзоотическая бронхопневмония) – высококонтагиозная, остро протекающая болезнь, характеризующаяся резко выраженной лихорадкой, общей слабостью и поражением органов дыхания, сопровождающимся кашлем, чиханием, и выделением назальной слизи. Вирус гриппа свиней может вызывать заболевание у людей и, наоборот, установлена возможность заражения свиней вирусом гриппа человека [3-5].

В настоящий момент у свиней выделяют семь основных подтипов вируса гриппа А: H1N1, H1N2, H3N2, H3N1, H4N6, H5N1 и H9N2. Однако наиболее распространенными среди них являются три подтипа вируса гриппа А: H1N1, H3N2 и H1N2. Подтип H1N1 считают классическим свиным гриппом, известным с 1918 г. [6]. Клинические проявления заболевания могут присутствовать в стаде несколько недель, по мере распространения вируса от свињи к свиње внутри

популяции. На течение и тяжесть заболевания свиней гриппом могут влиять ко-инфекционные агенты, возраст животных, общее состояние здоровья и иммунного статуса [5, 8, 9].

Эпизоотическая ситуация по гриппу свиней имеет большое социальное значение в связи со способностью вируса к реассортации и возникновению штаммов, высокопатогенных для людей.

Пандемии гриппа, возникшие в различные временные интервалы XX века, различались по своей тяжести, от легких до катастрофических. К ним можно отнести пандемию Испанского гриппа H1N1 («испанки») 1918 г., унесшего по разным данным от 20 до 50 миллионов жизней людей по всему миру. Пандемия 1957 г. (Азиатский грипп) и 1968 г. (Гонконгский грипп) унесли 1 и 0,5 миллиона жизней людей по всему миру, соответственно [1, 7-9].

Эпизоотическая ситуация по гриппу обострилась после заболевания и гибели людей от «нового» вируса гриппа свиней типа А, начавшегося в апреле 2009 г. в Мексике [4, 11]. Генетический анализ этого вируса показал, что он произошел от комбинированных Североамериканского и Евроазиатского вирусов гриппа свиней [5-7].

Эпизоотии гриппа среди свиней представляют серьезную проблему в Республике Казахстан. Так, при вирусологическом обследовании поросят с клиническими признаками респираторных заболеваний в свиноводческих хозяйствах Восточного Казахстана в 1984г. изолировано три штамма вируса гриппа A/H1N1 [12], в 2008 – 2009 гг. в крестьянских хозяйствах республики от свиней разных возрастов выделено девять изолятов, из которых четыре имели антигенную формулу A(H1N1), один – A(HswN1) и четыре – A/H3N2. Серологический анализ, проведенный для ретроспективного подтверждения этиологической роли вирусов гриппа, показал наличие у

животных антител к вирусам гриппа А/Н1N1; А/НswN1 и А/Н3N2 [13, 14].

При вирусологическом исследовании 258 носоглоточных смывов, собранных в период 2014-2016 гг. от свиней в крестьянских животноводческих хозяйствах Северо-Казахстанской и Костанайской областей, на куриных эмбрионах (КЭ) выделено семь гемагглютинирующих агентов, пять из которых идентифицированы в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и реакции ингибции нейраминидазной активности (РИНА) как вирусы гриппа А(Н1N1) [15]. Данные первичного скрининга носоглоточных смывов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) и идентификации выделенных от свиней изолятов в РТГА и РИНА, свидетельствовали о циркуляции в 2017 г. среди свиноголовья Северного Казахстана вирусов гриппа А/Н1N1 и А/Н3N2 [16, 17].

Эпизоотии среди животных имеют большое социально-экономическое значение, так как свиньи могут инфицироваться как «птичьими», так и «человеческими» штаммами вируса гриппа, создавая условия для возникновения реассортантов [3-5]. Одним из таких реассортантов является вирус гриппа А/Калифорния/04/09(Н1N1) pdm, включающий гены вирусов европейской и американской линий свиней, вируса гриппа птиц и человеческого вируса. Вирус гриппа А(Н1N1)

pdm2009 вызвал пандемию во многих странах, в том числе и в Казахстане [18, 19]. Это обстоятельство определяет значимость вируса гриппа свиней не только для ветеринарных служб, но и для органов здравоохранения.

Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей циркуляции вирусов гриппа в популяции свиней в различных регионах Казахстана в 2018-2019 гг.

## Материалы и методы исследования

Сбор биопроб (носоглоточные смывы и сыворотки крови) проводили от свиней 2-6 месячного возраста в крестьянских животноводческих хозяйствах, расположенных в Актубинской, Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской, Северо-Казахстанской, Павлодарской и Костанайской областях РК в 2018-2019 гг. Носоглоточные смывы собирали стерильными ватными тампонами, которые погружали в 2 мл транспортной среды 199 с 0,5% бычьим сывороточным альбумином и комплексом антибиотиков (пенициллин 50 000 ед/мл, стрептомицин 50 мкг/мл, гентамицин 3 000 мкг/мл, нистатин 5 000 ед/мл). Пробы выдерживали в течение суток при 4°C и хранили в жидком азоте (-196°C). На рисунке 1 представлены места сбора биологических проб от животных.



★ – точки отбора вирусологических проб

Рисунок 1 – Места сбора биологических проб у животных

Кровь брали из хвостовой или ушной вены в вакуумную пробирку с разделительным гелем и хранили в штативе в вертикальном положении при температуре 2-4°C [20].

Первичный скрининг носоглоточных смывов в РТ-ПЦР осуществляли на амплификаторе RotorGene (Германия) с применением наборов «РИБО – преп», «АмплиСенс® Influenzavirus A/B-FL» и «АмплиСенс® Influenzavirus A-тип-FL». Идентификацию подтипов вирусов гриппа проводили с использованием наборов «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» и «АмплиСенс® Influenza virus A-тип-H5, H7, H9-FL», производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва [21].

Изоляцию гемагглютинирующих агентов (ГАА) проводили на культуре клеток MDCK с добавлением ТРСК – трипсина (2 мкг/мл) и 9-11 дневных развивающихся КЭ. Для индикации вируса в реакции гемагглютинации использовали 0,75% взвесь эритроцитов петуха и человека 0 (I) группы крови.

Инфекционную активность изолятов определяли по общепринятому методу [22] и выражали в Ig ЭИД<sub>50</sub>/0.2 мл и Ig ТЦИД<sub>50</sub>/0.2 мл.

Идентификацию вирусов проводили в РТГА и РИНА с наборами поликлональных диагностических сывороток, согласно рекомендациям ВОЗ [24].

Уровень специфических антител к вирусам гриппа в сыворотках крови определяли в РТГА и иммуноферментном анализе (ИФА). РТГА проводили с использованием референсных штаммов: *A/California/04/09 (H1N1)v*, *A/Wisconsin/67/05 (H3N2)*, *A/USA/1976/31 (HswIN1)*, *A/New*

*Jersey/8/76 (H1N1)* и *A/swine/Iowa/15/30 (HswIN1)*, ИФА – тест-системам производства ООО «ППДП» (Россия, г. Санкт-Петербург) к вирусам гриппа А(H1N1) и А(H3N2).

## Результаты и обсуждение

Для изучения циркуляции вирусов гриппа в популяциях свиней из животноводческих хозяйств различных регионов Казахстана получено 1143 биопробы. Сбор носоглоточных смывов провели в Актюбинской (98), Алматинской (312), Карагандинской (137), Восточно-Казахстанской (154), Северо-Казахстанской (183), Павлодарской (62) областях. В Костанайской области собрано 197 биопроб (158 носоглоточных смывов и 39 сывороток крови).

Характеристика, собранного материала и скрининг носоглоточных смывов в РТ-ПЦР представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, при первичном скрининге 1104 носоглоточных смывов, собранных от свиней, РНК вируса гриппа А обнаружена в 26 биопробах (2,36% от общего числа проб). При субтипировании РНК вирусов гриппа А/H1N1 выявлена в 16 пробах (1,45%), А/H3N2 – в шести образцах (0,54%), А/H1sw2009 – в четырех образцах (0,36%). Все ПЦР положительные пробы на вирус гриппа А/H1N1 и А/H3N2 получены из Актюбинской, Алматинской, Карагандинской, Костанайской и Северо-Казахстанской областей. В двух областях (Восточно-Казахстанская и Павлодарская) выявлена РНК вируса гриппа А/H1sw2009. РНК субтипов H5, H7 и H9 вирусов гриппа А не выявлена.

**Таблица 1** – Характеристика биоматериалов и скрининг носоглоточных смывов, собранных от свиней в различных регионах Республики Казахстан в 2018-2019 гг., в РТ-ПЦР

Место сбора носоглоточных смывов	Количество смывов	Количество ПЦР – положительных проб к вирусам гриппа				
		Тип А	H1N1	H3N2	H1N1 (sw2009)	H5, H7, H9
Актюбинская область	98	3	2	1	-	-
Алматинская область	312	4	3	1	-	-
Карагандинская область	137	2	2	-	-	-
Костанайская область	158	3	1	2	-	-
Северо-Казахстанская область	183	10	8	2	-	-
Восточно-Казахстанская область	154	2	-	-	2	-
Павлодарская область	62	2	-	-	2	-
Всего:	1104	26	16	6	4	-

Примечание: «-» получены отрицательные результаты

Таким образом, результаты первичного скрининга носоглоточных смывов в РТ-ПЦР указывают на циркуляцию среди свиноголовья различных регионов Казахстана вирусов гриппа А/Н1N1 и А/Н3N2. Скрининг носоглоточных смывов, собранных в популяциях свиней Восточно-Казахстанской и Павлодарской областей, свидетельствуют о циркуляции в этих регионах вируса гриппа Н1N12009pdm.

В результате первичного заражения и последовательных пассажей на КЭ и культуре клеток

MDCK из ПЦР положительных проб, полученных из Северо-Казахстанской области в 2018 г., выделено три ГАА (1/18, 2/18 и 3/18).

В таблице 2 представлены гемагглютинирующая и инфекционная активности трех изолятов.

Как видно из таблицы 2 гемагглютинирующая и инфекционная активности выделенных изолятов на КЭ составили 1:512 – 1:1024 и 6,5 – 7,98 lg ЭИД<sub>50/0,2мл</sub>, на культуре клеток MDCK: 1:16 – 1:32 и 3,91 – 5,53 lgТЦИД<sub>50/0.2мл</sub>, соответственно.

**Таблица 2** – Титры гемагглютинации казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018г., в РГА и их инфекционная активность

Изолят	Титр РГА		Инфекционная активность	
	Куриные эмбрионы	Культура клеток MDCK	Куриные эмбрионы, lg ЭИД <sub>50/0,2мл</sub>	Культура клеток MDCK, lgТЦИД <sub>50/0.2мл</sub>
А/Свинья/Петропавловск/01/18	1:1024	1:32	6,5	4,22
А/Свинья/Петропавловск/02/18	1:1024	1:32	7,82	3,91
А/Свинья/Петропавловск/03/18	1:512	1:16	7,98	5,53

Результаты определения подтипа гемагглютинина трех изолятов вируса гриппа в РТГА представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, гемагглютинирующая активность свиных изолятов от 1/4 до 1/8 гомологичных титров подавлялась иммунной

сывороткой к эталонному вирусу с антигенной формулой А/Нsw1N1. С сыворотками к вирусам гриппа А/Н1N1pdm и А/Н3N2 получены отрицательные результаты, что указывает на принадлежность ГАА, выделенных от свиней, к вирусу гриппа А с подтипом гемагглютинина Н1.

**Таблица 3** – Результаты идентификации подтипа гемагглютинина казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018 г., в реакции торможения гемагглютинации

Иммунная сыворотка к референсным штаммам	Титры антигемагглютининов к изолятам			
	Гомологичные титры	А/свинья/ Петропавловск/01/18	А/свинья/ Петропавловск/02/18	А/свинья/ Петропавловск/03/18
А/California/07/09 (H1N1) pdm	40	<20	<20	<20
А/Wisconsin/67/05 (H3N2)	320	<20	<20	<20
А/USA/1976/31 (Hsw1N1)	640	160	160	40
А/New Jersey/8/76 (H1N1)	640	40	80	20
А/swine/Iowa/15/30 (Hsw1N1)	640	80	80	160

Примечания: даны обратные величины титров специфических антигемагглютининов

Идентификация подтипа нейраминидазы североказахстанских изолятов вируса гриппа А в РИНА представлена в таблице 4.

**Таблица 4** – Идентификация подтипа нейраминидазы казахстанских изолятов вирусов гриппа, выделенных от свиней в 2018 г. в реакции ингибции нейраминидазной активности

Изолят	Титр антинейраминидазных антител к иммунным сывороткам к вирусам	
	H1N1	H3N2
А/Свинья/Петропавловск/01/18	100	< 20
А/Свинья/Петропавловск/02/18	100	< 20
А/Свинья/Петропавловск/03/18	100	< 20

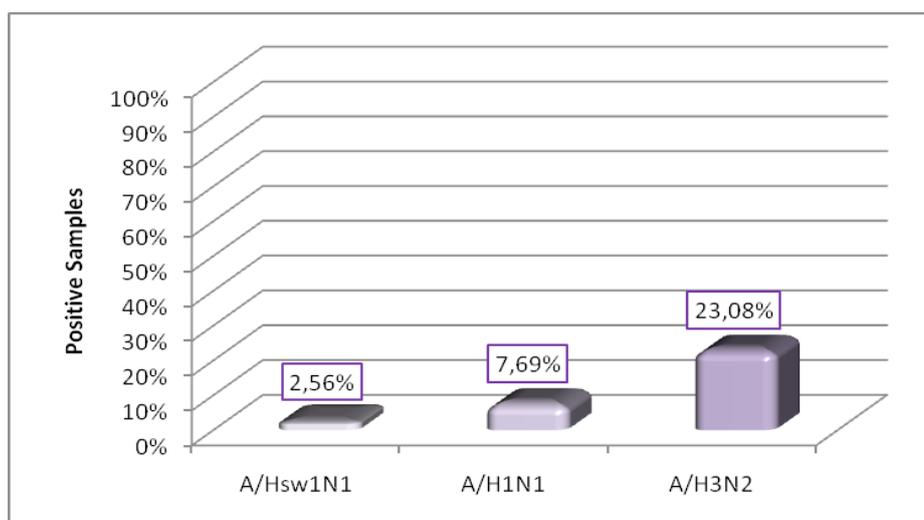
Из таблицы 4 видно, что нейраминидазная активность всех изолятов вирусов гриппа в ти-

трах 1:100 подавлялась иммунной поликлональной сывороткой к вирусу гриппа А (H1N1).

Таким образом, по результатам РТГА и РИНА изоляты 2018 г., выделенные из проб, собранных в Северо-Казахстанской области, отнесены к вирусам гриппа А с антигенной формулой H1N1.

На рисунке 2 представлены результаты исследования в РТГА 39 сывороток крови, собранных от свиней в Костанайской области. Установлено, что одна проба (2,56% от общего количества исследованных сывороток) оказалась положительной к вирусу гриппа *A/swine/Iova/15/30 (H<sub>sw</sub>1N1)*, титр составил 1:40. В трех сыворотках крови животных (7,69%) антигемагглютинины выявлены к вирусу гриппа *A/California/04/09 (A/H1N1pdm)*. К вирусу *A/Panama/2007/99 (H3N2)* позитивными оказались девять сывороток крови (23,08%). Титры антител составили 1:20-1:40.

На рисунке 3 представлены результаты серологического анализа в ИФА 39 сывороток крови, собранных от свиней в Костанайской области.



**Рисунок 2** – Результаты серологического анализа сывороток крови свиней в РТГА

Установлено, что шесть образцов (15,38% случаев от общего числа обследованных проб) оказались серопозитивными к вирусу гриппа А/Н3N2. К вирусам гриппа А/Нsw1N1 и А/Н1N1 получены отрицательные результаты.

Таким образом, серологические исследования 39 сывороток крови в РТГА и ИФА подтвердили циркуляцию в популяции свиней в Костанайской области вирусов гриппа А/Н1N1 и А/Н3N2.

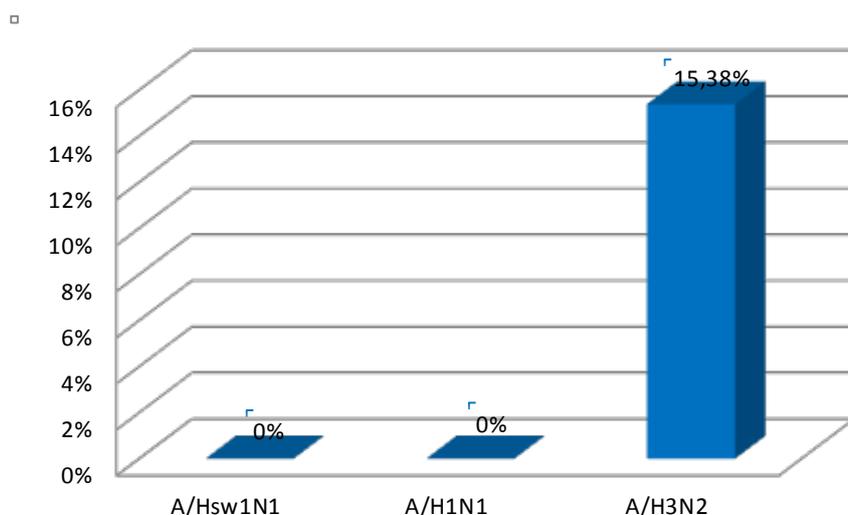


Рисунок 3 – Результаты серологического анализа сывороток крови свиней в ИФА

### Заключение

Популяции свиней играют важную роль в эволюции вирусов гриппа А и их считают подходящим «сосудом для смешивания» вирусов от разных хозяев. Имеющиеся данные о существовании в организме свиней клеточных рецепторов для вирусов гриппа млекопитающих, человека и птиц, объясняют факты трансмиссии вирусов гриппа А от человека и птиц к свиньям и обратно [25]. Неоднократно показано, что вирус гриппа свиней может инфицировать людей, а также передаваться от свиньи к свинье как внутри единичного хозяйства, так и между различными животноводческими комплексами, расположенными в одном регионе [26]. Доказательством этого явилась эпизоотия гриппа свиней, возникшая в пригороде Мехико в марте 2009 г., во время которой был выделен A/California/04/09 (A/H1N1pdm). Этот вирус оказался способным инфицировать людей и передаваться от зараженных лиц контактным людям сначала в г. Мехико, а уже в апреле 2009 г. распространился в США и Канаде, а затем и в других странах всех континентов, в том числе и в Казахстане. Имеются сведения о спорадических случаях выделения классического вируса гриппа свиней от больных людей, не контактировавших со свиньями в Швейцарии и Нидерландах.

Большое значение для изучения циркуляции вируса гриппа свиней имеет также серологический анализ, позволяющий по факту накопления антител определить этиологию возбудителя. Из данных литературы известно, что антитела к

вирусу гриппа обнаруживают в среднем у 25% свиней по всему миру [27], кроме северных и центральных районов США, где доля серопозитивных к гриппу особей достигает 51% [28]. Результаты, полученные в Казахстане как ранее [26, 29-32], так и в представленной работе, близки к общемировым показателям. Значительные отличия полученных данных от результатов, регистрируемых у свиней в Соединенных Штатах, по всей видимости, связаны с преобладанием стойлового разведения животных и отсутствием в практике казахстанского свиноводства перегонов стад животных на большие расстояния, что свойственно свиноводческой отрасли США [32].

В ходе проведенных вирусологических и серологических исследований установлено, что в ряде казахстанских свиноводческих хозяйств циркулируют вирусы гриппа А с антигенными формулами H1N1 и H3N2, что свидетельствует о необходимости постоянного надзора за их циркуляцией среди поголовья свиней в различных регионах Республики Казахстан для своевременного прогнозирования эпизоотических и эпидемических вспышек, и проведения профилактических мероприятий по предотвращению пандемий.

### Выводы

1. В крестьянских животноводческих хозяйствах, расположенных в Актюбинской, Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской, Северо-Казахстанской, Павлодарской и Костанайской областях РК от свиней 2-6

мес. возраста собрано 1143 биопробы: 1104 носоглоточных смыва и 39 сывороток крови.

2. Первичный скрининг 1104 носоглоточных смыва в РТ-ПЦР указывает на социркуляцию в популяциях свиней различных регионов Казахстана вирусов гриппа А/Н1N1, А/Н3N2 и А/Н1sw2009.

3. При серологическом исследовании сывороток крови, собранных в эпидемический сезон 2018-2019 гг. от свиней в Костанайской области, в РТГА и ИФА установлена социркуляция вирусов гриппа А/Н3N2 и А/Н1N1.

4. В результате вирусологических исследований из биологических проб на КЭ выделены три изолята из Северо-Казахстанской области, идентифицированные в РТ-ПЦР, РТГА и РИНА как вирусы гриппа А/Н1N1.

*Конфликт интересов.* Авторы не имеют конфликта интересов.

*Благодарности.* Авторы статьи выражают особую признательность руководителю Государ-

ственного Учреждения «Северо-Казахстанская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Сырымбету Сериковичу Рахметову, руководителю Государственного Учреждения «Павлодарская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Рашиду Маденовичу Нурбекову, руководителю Государственного Учреждения «Восточно-Казахстанская областная территориальная инспекция комитета ветеринарного контроля и надзора министерства сельского хозяйства Республики Казахстан» Кадесу Ашоковичу Челекенову.

*Работа выполнена в рамках государственного гранта Комитета Науки Министерства Образования и Науки Республики Казахстан № АР05130989: «Молекулярно-генетическая изменчивость вирусов гриппа свиней в Казахстане».*

#### Литература

- 1 Lvov D.K. Influenza A viruses a sum of populations with a common protected gene pool // Sov. Med. Rev. Virol. – 1987. – V. 2. – P. 15-37.
- 2 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. Evolution of ecology of influenza A viruses // Microbiol. Rev. – 1992. – V. 56. – P. 152-179.
- 3 Tran G.M.K., Gerbaud L., Caprani A.C. 66. Scorpion model of Influenza A(H1N1). ISHEID Conf 2010, Toulon France. Poster P168, Internet.
- 4 Грипп А/Н1N1: особенности перехода от животного к человеку: Информационный бюллетень ИНФОСАН No. 2/2009. [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_02\\_influenza\\_Apr09\\_ru\\_rev1.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_influenza_Apr09_ru_rev1.pdf).
- 5 Кукушкин С.А., Байбиков Т.З., Каньшина А.В., Чельшева М.В. Грипп свиней (эпизоотология, диагностика, меры борьбы и профилактики) // Ветеринария.- 2009. – № 9. – С. 3-7.
- 6 Деева Э.Г. Грипп. На пороге пандемии. – М.: ГЕОТАР-Медиа. – 2008. – С. 16-44.
- 7 Каверин Н.В., Смирнов Ю.А. Межвидовая трансмиссия вирусов гриппа А и проблема пандемий // Вопросы вирусологии. – 2003. – №3. – С. 4-10.
- 8 Соловьев Б.В. Грипп: современные представления – Вет. жизнь.- 2006.- № 7-8 (апрель).- С. 14-15.
- 9 Hause B. M., Oleson T. A., Bey R. F., et al. Antigenic categorization of contemporary H3N2 swine influenza virus isolates using a high-throughput serum neutralization assay // J. Vet. Invest.- 2010.- Vol. 22.- P. 352-359.
- 10 Brown I.H. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs // Vet. Microbiol.- 2000.- Vol.- 74.- P.- 29-46.
- 11 Neumann N., Noda T., Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus // Nature. – Vol. 459. – 2009. – P. 931–939.
- 12 Лаптев С.В., Ямникова С.С., Саятов М.Х. и др. Изучение биологических и антигенных свойств вирусов гриппа А(Н1N1), выделенных от свиней в Восточном Казахстане // Известия АН КазССР.- 1987.- № 2.- С. 55-58.
- 13 Кузнецова Т.В., Шаменова М.Г., Баймаханова Б.Б. и др. Мониторинг циркуляции вируса гриппа А среди свиней в восточном Казахстане // Ветеринария.- 2009.- № 5(9).- С. 52-54.
- 14 Ишмухаметова Н.Г. «Свиной грипп» А(Н1N1) и его распространение среди людей // Доклады НАН РК. – 2013. – № 4.- С. 96-101.
- 15 Кливлеева Н.Г., Сактаганов Н.Т., Глебова Т.И. и др. Обнаружение вирусов гриппа А(Н1N1) у людей и свиней в регионе северного Казахстана в 2014-2016 гг. // Известия НАН РК.- 2017.- № 5 (323).- С. 106-114.
- 16 Онгарбаева Н.С., Сактаганов Н.Т., Калкожаева М.К. и др. Циркуляция вируса гриппа А/Н1N1 среди людей и свиней в северном и западном Казахстане в 2017-2018 гг. // The Central Asian Scientific-practical Journal on Public Health. – 2018. – № 2 (59). – С. 112-115.
- 17 Кливлеева Н.Г., Глебова Т.И., Байсейіт С.Б. и др. Выявление вирусов гриппа, циркулирующих среди свиней в различных регионах Казахстана в весенний период 2018 г. // Микробиология және вирусология. – 2018. – №3(22). – С. 89-96.

- 18 Гендон Ю.З. Свиной грипп H1N1/Калифорния – страсти и факты // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. – № 4. – С. 105-114.
- 19 Икранбегийн Р., Кузнецова Т.В., Грудинин М.П. и др. Молекулярно-генетические свойства пандемического вируса H1N1v, циркулировавшего на территории Казахстана (2009-2010) // Вестник НГУ. – 2012. – Т. 10 (3). – С. 80-86.
- 20 Мейер, Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика /Д. Мейер, Дж. Харви // Перевод с англ. – М.: Софион, 2007. – 456 с.
- 21 Hoffmann E, Stech J, Guan Y et. al. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. // Arch Virol. – 2001. – 146 (12). – P. 2275-89.
- 22 Reed L.J., Muench H.A. A simple method of estimation fifty percent endpoints // American Journal of tropical medicine and Hygiene. – 1938. – V. 27. – P. 493-497.
- 23 Douwdal W.A., Kendal A., Noble G.R. Influenza virus: Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. – Washington, 1979. – P. 585-609.
- 24 Jong J.C., Paccaud M.H., Ronde-Veploop J.M et.al. «Isolation of swine – like influenza A(H1N1) viruses from man in Switzerland and Netherlands. // Ann. Inst. Pasteur Virol. – 1988. – V. 139. – № 4. – P. 429-437.
- 25 Leuwerke B., Kitikoon P., Evans R., Thacker E. Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. Swine influenza viruses. // J. Vet. Diagn. Invest. – 2008. – V. 20. – P. 426-432.
- 26 Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г., Шаменова М.Г. и др. Серологический анализ циркуляции вирусов гриппа А среди свиней в Казахстане в 2013-2014 гг. // Ветеринария. – 2016. – №1 (45). – С. 61-63.
- 27 Методические указания по обнаружению вируса гриппа свиной типа А методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. - Владимир: ООО «Транзит-ИКС», 2009.
- 28 Свиной грипп у свиней: Факты <http://www.eurolab.ua/flu/2126/15843/>. 03.06.2019
- 29 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Glebova T.I. et al. Serodiagnostic testing of influenza virus in pigs in Northern Kazakhstan // Journal of Central Asian Health Service Research. – 2014. – № 1. – P. 22-26.
- 30 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Kuznetsova T.V. et al. Virological Monitoring of Influenza Virus Circulation in Swine Population in The Republic of Kazakhstan // World Congress on Controversies, Debates & Consensus in Veterinary Medicine. – Prague. – 2014. – P. 79-80.
- 31 Лукманова Г.В., Кливлеева Н.Г., Шаменова М.Г. и др.. Серологический мониторинг циркуляции вирусов гриппа А в популяции свиней в Казахстане (2013-2014 гг.) // Межд. науч. журнал. – Киев, 2015. – № 6. – С. 9.
- 32 Лагер К. Актуальные вирусные болезни свиней // Материалы семинара «Проблемы инфекционной патологии свиней»: XVIII Московский Междунар. Ветеринарный Конгресс. – Москва, 2010. – С. 12-18.

#### References

- 1 Brown I.H. (2000) The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. Vet. Microbiol, vol. 74, pp. 29-46.
- 2 Deeva Je.G. (2008) Gripp. Na poroge pandemii [Influenza. On the verge of a pandemic]. – М.: GEOTAR-Media. pp. 16-44.
- 3 Douwdal W.A., Kendal A., Noble G.R. (1979) Influenza virus: Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. Washington, pp. 585-609.
- 4 Gendon Ju.Z. (2010) Svinoy gripp N1N1/Californiya – strasti i fakty [H1N1 Swine Influenza / California – Passions and Facts]. Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology, no 4, pp. 105-114.
- 5 Hause B. M., Oleson T. A., Bey R. F. et al. (2010) Antigenic categorization of contemporary H3N2 swine influenza virus isolates using a high-throughput serum neutralization assay. J. Vet. Invest, vol. 22, pp. 352-359.
- 6 Hoffmann E, Stech J, Guan Y et. al. (2001) Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. Arch Virol.- 146 (12), pp. 2275-89.
- 7 Ishmuhametova N.G. (2013) «Svinoy gripp» A(N1N1) i ego rasprostranenie sredi ljudej [«Swine influenza» A (H1N1) and its distribution among men]. Reports of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, no 4, pp. 96-101.
- 8 Informacionnyj bjulleten' INFOSAN No. 2/2009 – «A/H1N1 Influenza: characteristics of the transmission from animal to human» [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/No\\_02\\_influenza\\_Apr09\\_ru\\_rev1.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_02_influenza_Apr09_ru_rev1.pdf).
- 9 Ikranbegijn R., Kuznetsova T.V., Grudinina M.P. et.al. (2012) Molekuljarno-geneticheskie svojstva pandemicheskogo virusa N1N1v, cirkulirovavshogo na territorii Kazahstana (2009-2010) [Molecular genetic properties of pandemic H1N1v virus circulating in the territory of Kazakhstan (2009-2010)]. Vestnik NGU, vol. 10 (3), pp. 80-86.
- 10 Jong J.C., Paccaud M.H., Ronde-Veploop J.M et.al. (1988) «Isolation of swine – like influenza A(N1N1) viruses from man in Switzerland and Netherlands. Ann. Inst. Pasteur Virol, vol. 139, no 4, pp. 429-437.
- 11 Kaverin N.V., Smirnov Yu. A. (2003) Mezovidovaya transmissiya virusov grippa A i problema pandemiy [An interspecies transmission of influenza A viruses and pandemics]. Problems of virology, no 3, pp. 4-10.
- 12 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Baymakanova B.B. et.al. (2009) Monitoring cirkuljatsii virusa grippa A sredi svinej v Vostochnom Kazahstane [Monitoring of circulation of influenza A virus among pigs in East and Northern Kazakhstan]. Veterinarija, no5(9), pp. 52-54.
- 13 Kuznetsova T.V., Shamenova M.G., Glebova T.I. et al. (2014) Serodiagnostic testing of influenza virus in pigs in Northern Kazakhstan. Journal of Central Asian Health Service Research, no 1, pp. 22-26.
- 14 Klivleyeva N.G., Saktaganov N.T., Glebova T.I. et.al. (2017) Obnaruzhenie virusov grippa A(N1N1) u ljudej i svinej v regione severnogo Kazahstana v 2014-2016 gg. [Detection of influenza A(H1N1) viruses in humans and pigs in the northern Kazakhstan during 2014–2016]. News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, no 5 (323), pp. 106-114.

- 15 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Baiseit S.B. et al. (2018) Vyjavlenie virusov grippa, cirkulirujushhih sredi svinej v razlichnyh regionah Kazahstana v vesennij period 2018 g. [Detection of influenza viruses circulating among swine in different regions of Kazakhstan during 2018 spring season]. *Mikrobiologija zhəne virusologija*, no 3(22), pp. 89-96.
- 16 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Kuznetsova T.V. et al. (2014) Virological monitoring of influenza virus circulation in swine population in the Republic of Kazakhstan. *World Congress on Controversies, Debates & Consensus in Veterinary Medicine*, Prague, pp. 79-80.
- 17 Kukushkin S.A., Baibikov T.Z., Kan'shina A.V., Chelysheva M.V. (2009) Gripp svinej (epizootologiya, diagnostika, mery bor'by i profilaktiki) [Swine influenza (epizootology, diagnosis, control and prevention measures)]. *Veterinariya*, no 9, pp. 3-7.
- 18 Laptev S.V., Jamnikova S.S., Sayatov M.Kh. et al. (1987) Izuchenie biologicheskikh i antigennykh svojstv virusov grippa A (N1N1), vydelennykh ot svinej v Vostochnom Kazahstane [Study on biological and antigenic properties of influenza A (H1N1) viruses isolated from swine in the East Kazakhstan]. *Izvestija AN KazSSR*, no 2, pp. 55-58.
- 19 Lvov D.K. (1987) Influenza A viruses a sum of populations with a common protected gene pool. *Sov. Med. Rev. Virol.*, vol. 2, pp. 15-37.
- 20 Leuwerke B., Kitikoon P., Evans R., Thacker E. (2008) Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. Swine influenza viruses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, vol. 20, pp. 426-432.
- 21 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Shamenova M.G. et al. (2016) Serological analysis of circulation of influenza viruses among swines in Kazakhstan in 2013-2014. *Veterinariya*, no 1 (45) pp. 61-63.
- 22 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Shamenova M.G. et al. (2015) Serological analysis of circulation of influenza viruses A among swines in Kazakhstan in 2013-2014. *International scientific journal*, no 6, pp. 9.
- 23 Lager K. (2010) Aktual'nye virusnye bolezni svinej. Materialy seminarā «Problemy infekcionnoj patologii svinej»: XVIII Moskovskij Mezhdunar. Veterinarnyj Kongress.- Moskva, pp. 12-18.
- 24 Mejer, D. (2007) Veterinarnaja laboratornaja medicina. Interpretacija i diagnostika [Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis] / D. Mejer, Dzh. Harvi . Perevod s angl. – M.: Sofion, p. 456.
- 25 (2009) Metodicheskie ukazanija po obnaruzheniju virusa grippa svinej tipa A metodom polimeraznoj cepnoj reakcii v rezhime real'nogo vremeni. Vladimir: LLC «Tranzit-IKS»
- 26 Neumann N., Noda T., Kawaoka Y. (2009) Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature*, vol. 459, pp. 931–939.
- 27 Ongarbayeva N.S., Saktaganov N.T., Kalkozhayeva M.K. et al. (2018) Cirkuljacija virusa grippa A/H1N1 sredi ljudej i svinej v severnom i zapadnom Kazahstane v 2017-2018 gg. [Circulation of A/H1N1 influenza virus among humans and swine in northern and western Kazakhstan during 2017-2018]. *The Central Asian Scientific-practical Journal on Public Health*, no 2 (59), pp. 112-115.
- 28 Reed L.J., Muench H.A. (1938) A simple method of estimation fifty percent endpoints. *American Journal of tropical medicine and Hygiene*, vol. 27, pp. 493-497.
- 29 Solov'ev B.V. (2006) Gripp: sovremennye predstavlenija. *Vet. zhizn'*. No 7-8 (April), pp. 14-15.
- 30 Swine influenza in pigs: Facts <http://www.eurolab.ua/flu/2126/15843/>. 03.06.2019
- 31 Tran G.M.K., Gerbaud L., Caprani A.C. 66. Scorpion model of Influenza A(H1N1). ISHEID Conf 2010, Toulon France. Poster P168, Internet.
- 32 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. (1992) Evolution of ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.*, vol. 56, pp. 152-179.