

(латентность) является мерой порога боли. Другие нерелективные измерения боли включают в себя взвешивание (при котором анализируется распределение между лапами / походкой), мониторинг животных в клетке на предмет аномального поведения (например, измененной двигательной активности или груминга) и тесты в открытом поле. Животные также могут быть подвергнуты тестам на свободный выбор (кондиционирование места, тесты на бегство от места), которые коррелируют продолжающуюся боль с процессами вознаграждения [7].

Список литературы

1. IASP Taxonomy – IASP [Электронный ресурс]. URL: <https://web.archive.org/web/20150113000208/http://www.iasp-pain.org/Taxonomy#Neuropathicpain> (дата обращения: 21.12.2020).
2. Watson J.C., Sandroni P. Central Neuropathic Pain Syndromes // Mayo Clinic Proceedings. 2016. № 3 (91). P. 372–385.
3. Баринов А.Н., Ахмеджанова Л.Т., Махинов К.А. Алгоритмы диагностики и лечения невропатической боли при поражении периферической нервной системы // Русский медицинский журнал. 2016;24(3):154-162.
4. Baron R., Binder A., Wasner G. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment // Lancet Neurology. 2010;9(8):807-19.
5. Finnerup N.B. [и др.]. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice // Pain. 2016. № 8 (157). P. 1599–1606.
6. Сендрякова В.Н., Брагина М.В., Коваленко Н.В., Кавалерова Д.А., Букатин М.В. Современные проблемы экспериментальной онкологии // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2012. № 1-1. С. 117-118.
7. Burma N.E. [и др.]. Animal models of chronic pain: Advances and challenges for clinical translation // Journal of Neuroscience Research. 2017. № 6 (95). P. 1242–1256.

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНОТИПА ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА В ПРОБАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Полякова А.А., Зарипова А.А.,
Ищенко Ю.А., Просвирова К.А.

ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Волгоград,
e-mail: anna.polyakova.99.99@mail.ru

В данной статье представлены обобщённые сведения, касающиеся распространения вируса, который при инфицировании вызывает заболевание, носящее название лихорадки Западного Нила. В тексте статьи приведено краткое описание ареала, в котором происходит распространение вируса во всём мире и, в частности, – на территории Российской Федерации. Обзорно показаны методы выявления генотипа данного вируса в пробах различного биологического материала.

Методы выявления генотипа вируса лихорадки Западного Нила в пробах биологического материала.

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природноочаговая летне-осенняя арбовирусная

инфекция, которая протекает у человека в виде острого лихорадочного заболевания с симптомами общей интоксикации, головными и мышечными болями, часто с развитием менингита и менингоэнцефалита [1].

Вирус Западного Нила (ВЗН, *West Nile virus*) принадлежит к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus*, антигенному комплексу вирусов японского энцефалита (*Japanese encephalitis virus group*). По принятой в Российской Федерации классификации патогенных биологических агентов ВЗН относят к вирусам II группы патогенности. ВЗН является возбудителем природно-очаговой арбовирусной инфекции с трансмиссивным механизмом передачи, называемой лихорадкой Западного Нила (ЛЗН). Клинические проявления ЛЗН варьируют от гриппоподобного синдрома до развития тяжелых осложнений в форме менингита и менингоэнцефалита. Летальность при ЛЗН, в зависимости от иммунного статуса заболевших, составляет от 4 до 10% [2].

Результаты клинико-морфологического анализа показали, что заболевание ЛЗН протекает преимущественно в гриппоподобной форме (66,7%), а также в более тяжелой менингеальной форме (33,3%). Срок инкубационного периода варьирует от 3 до 17 дней. Заболевание сопровождается снижением иммунитета и распространенными васкулитами во всех органах и системах, в результате возникают множественные очаги повреждения (дистрофии и некрозы). Клинически это проявляется в виде геморрагической сыпи, конъюнктивита, лимфаденопатии, увеличении печени и селезенки, также могут наблюдаться явления миокардита, гепатита, гломерулонефрита, пневмонии [3].

В России болезнь впервые была зарегистрирована в 1997 г., первая крупная вспышка произошла в 1999 г., когда заболели более 400 человек. Случаи были зарегистрированы на территории Волгоградской области и Краснодарского края. За 15 лет инфекция распространилась по всему югу страны [4].

Ареалы ВЗН занимают огромные территории в пределах экваториального, тропического и умеренного климатических поясов в Африке, Европе, Америке, Азии и Австралии. В России ареал распространения ВЗН охватывает территории юга европейской части, регионы Сибири и Дальнего Востока [2].

В 2019 г. отмечено снижение заболеваемости (463 случая): в странах ЕС – 410 случаев заражения, на территории граничащих с ними государств – 53 случая, также было зарегистрировано 50 случаев смерти. Летальность составила 11%. По опубликованным данным, на всей территории Южной, Восточной и Центральной Европы циркулируют 1 и 2 генотипы вируса Западного Нила (ВЗН) с доминированием 2 генотипа [5].

Проявления лихорадки Западного Нила в 2019 году в целом по России как и в 2018 г. характеризовались эпидемическим подъемом заболеваемости. За сезон было зарегистрировано 352 лабораторно подтвержденных случая ЛЗН (0,2 на 100 тыс. человек), что в 2 раза превышает среднегодовое значение (2012–2018 гг., 0,1 на 100 тыс.) и в 4 раза показатель 2018 года. Случаи заболевания были выявлены в 14 субъектах 5 федеральных округов [5].

По современным данным штаммы ВЗН разделены на 9 генотипов (генетических линий). В России достоверно зарегистрирована циркуляция 1, 2 и 4 генотипов ВЗН, имеющих разное эпидемическое значение. Так, штаммы ВЗН генотипов 1 и 2 являются высокопатогенными для человека, а патогенность ВЗН 4 генотипа для млекопитающих пока не установлена. Имеются данные, что инфицирование некоторыми штаммами ВЗН субгенотипа 1a, приводит к появлению более тяжелых нейтроинвазивных форм ЛЗН. Это, по-видимому, свидетельствует о более высокой вирулентности некоторых штаммов ВЗН субгенотипа 1a по сравнению со штаммами субгенотипа 1b и генотипа [2].

Одним из перспективных подходов выявления генотипа ВЗН в пробах биологического материала с высокой чувствительностью и специфичностью является использование полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР). ОТ-ПЦР является прямым методом выявления РНК ВЗН. В основе метода ОТ-ПЦР лежит последовательное осуществление двух процессов: реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Реакция обратной транскрипции представляет собой синтез цепи комплементарной ДНК (кДНК) по матрице РНК посредством фермента ревертазы. Метод ПНР заключается в амплификации целевых участков полученной кДНК посредством фермента ДНК-полимеразы и праймеров, фланкирующих участки уникальных кДНК-мишеней, существующих только у определенных генотипов вируса [2].

При детекции продуктов амплификации использование специальных флуоресцентных меток позволяет отказаться от стадии электрофореза, что не только сокращает время проведения анализа, но и снижает риск контаминации продуктами ПЦР и, соответственно, нивелирует ложноположительные результаты. Поскольку регистрация результатов проводится непосредственно в процессе реакции амплификации, весь анализ можно проводить в двух зонах лаборатории силами одного сотрудника. Этот подход позволяет проводить автоматическую интерпретацию полученных результатов и снимает проблему субъективной оценки электрофореграмм [2].

Известен способ обнаружения вируса лихорадки Западного Нила, предусматривающий проведение реакции обратной транскрипции с РНК вируса и последующей двойной амплификацией, а также набор олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации вируса клещевого энцефалита, вируса лихорадки Западного Нила, боррелий и риккетсий методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени [2].

Технология [6] для секвенирования, в которой используются относительно короткие прочтения (например, содержащие менее чем 300 или менее чем 200 оснований, например, ~30-50 оснований) для достижения длинной непрерывной последовательности высокого качества, сравнимой или улучшенной по сравнению со стандартными технологиями. В наборе одна часть праймеров видоспецифична (вирус клещевого энцефалита, вирус лихорадки Западного Нила), а другая – родоспецифична (риккетсии и боррелии) [6].

Эта технология не ограничивается какими-либо конкретными платформами для секвенирования и является общеприменимой и не зависит от платформы. Например, помимо снижения времени выполнения на системах Illumina, сходное уменьшение времени наблюдается при получении последовательностей с использованием, например, систем Ion Torrent, Life Technologies, и GeneReader, Qiagen [7]. Однако предложенные в данных патентах олигонуклеотиды не позволяют определять генотип ВЗН [2].

Список литературы

1. Алексейчик И.О., Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Бородай Н.В., Алиева А.К., Агаркова Е.А., Чеснокова С.Н., Фомина В.К., Батурин А.А., Жуков К.В., Шахов Л.О., Паккина Н.Д., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Викторов Д.В., Топорков А.В. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила на территории Российской Федерации в 2018 г. и прогноз ее развития на 2019 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 1:17–25.
2. Набор олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно-меченого зонда для идентификации вируса западного нила 1 генотипа [Текст]: пат 2629604 Рос. Федерация: МПК C12Q 1/68.
3. Ильина В.А. Полиорганный патология при лихорадке Западного Нила // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2017. Т. 7. № 6. С. 1146.
4. Адищева О.С., Малхазова С.М., Орлов Д.С. Распространение лихорадки Западного Нила в России // Вестник московского университета. серия 5: география. 2016. № 4. С. 48–54.
5. Путинцева Е.В., Алексейчик И.О., Чеснокова С.Н., Удовиченко С.К., Бородай Н.В., Никитин Д.Н., Агаркова Е.А., Батурин А.А., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Смелянский В.П., Викторов Д.В., Топорков А.В. Результаты мониторинга возбудителя лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2019 г. и прогноз развития эпидемической ситуации на 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 51–60.
6. Набор олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации вируса клещевого энцефалита, вируса лихорадки Западного Нила, боррелий и риккетсий методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени [Текст]: пат 2629604 Рос. Федерация: МПК G01N 33/58, C12Q 1/68.
7. Библиотеки для секвенирования нового поколения [Текст]: пат 2698125 Рос. Федерация: МПК C12N 15/10, C40B 40/06, C12Q 1/6.