

Опыт проведения полногеномного секвенирования в полевых условиях за пределами Российской Федерации (Монголия) / Experience in whole-genome sequencing in field conditions outside the Russian Federation (Mongolia)



Киреев А.А./Kireev A.A., Рождественский, Е.Н./Rozhdestvensky E.N.,
Оплеухин А.А./Opleukhin A.A., Бжитских Е.Е./Bzhitskikh E.E.
Научный руководитель: Базарова Г.Х./Scientific supervisor: Bazarova G.Kh.
ФКУЗ «Алтайская ПЧС» Роспотребнадзора, Горно-Алтайск, Российская Федерация /
FKUZ "Altai PES" of Rospotrebnadzor, Gorno-Altai, Russian Federation

Введение

В современном мире чума остается одной из социально значимых эпидемических угроз. Существование активного трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы требует постоянного мониторинга. В Республике Алтай Кош-Агачского района находится Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы, уникальностью которого является циркуляция чумного микроба двух вариантов (с 2012 г.). Высокая эпизоотическая активность Сайлюгемского очага, значимое увеличение его эпидемического потенциала на российской (2014-2016 гг.) и монгольской территориях (2010-2023 гг.), вызвали необходимость создания эффективной системы мониторинга путем реализации международных программ российско-монгольского сотрудничества. Применение автономной мобильной лаборатории (МЛМД) в непосредственной близости от обследуемых участков с ежедневной доставкой материала, обеспечило качественное и оперативное выполнение в полевых условиях лабораторных исследований, что позволило повысить эффективность мониторинга и внести коррективы в тактику обследования с целью контроля и прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по чуме.

Цель

Испытание МЛМД для проведения комплексной оценки эпизоотической ситуации на территории Монголии с проведением генетического анализа выделенных штаммов.

Научная новизна: Продемонстрировано генетическое разнообразие выделенных в 2023 г. в монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы штаммов основного подвида.

Материалы и методы

Биологический материал (серый сурок, мелкие млекопитающие, остатки стола хищных птиц, эктопаразиты) отобран и исследован в рамках распоряжения правительства РФ № от 973-р от 18.04.2023 г. и приказа Роспотребнадзора № 324 от 30.05.2023 г. совместного русско – монгольского эпизоотологического обследования монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы. Площадь обследования составила – 2747,48 км². Использование МЛМД в полевых условиях обеспечило качественное и оперативное проведение исследований специалистами станции методами ПЦР («АмплиСенс® *Yersinia pestis*-FL») всего полевого материала (100 %), а также, бактериологическим и генетическим («MinION Mk1B»).

Результаты

В результате исследований выявлена циркуляция эпидемиологически значимых возбудителей чумного микроба основного подвида (*Yersinia pestis* ssp. *pestis*), что свидетельствует о высокой активности очага. Сохранение его эпидемического потенциала на монгольской территории, способствует созданию риска международного распространения на территорию России. Работа мобильной лаборатории (2018, 2019, 2021-2023 гг.) в полевых условиях исключила проблему транспортировки образцов, тем самым повысила сохранность возбудителя от губительного воздействия прямой солнечной радиации и сложного ветрового режима (высушивание (0,55-0,78)). Полученные результаты позволили выявить новые эпизоотические участки. В 2020 г. обследования не состоялись из-за закрытия государственной границы по причине пандемии COVID-19. Прогнозируя ситуацию по полученным результатам, эпизоотическая активность монгольской части продолжится, так как, существует тенденция к расширению эпизоотической территории.

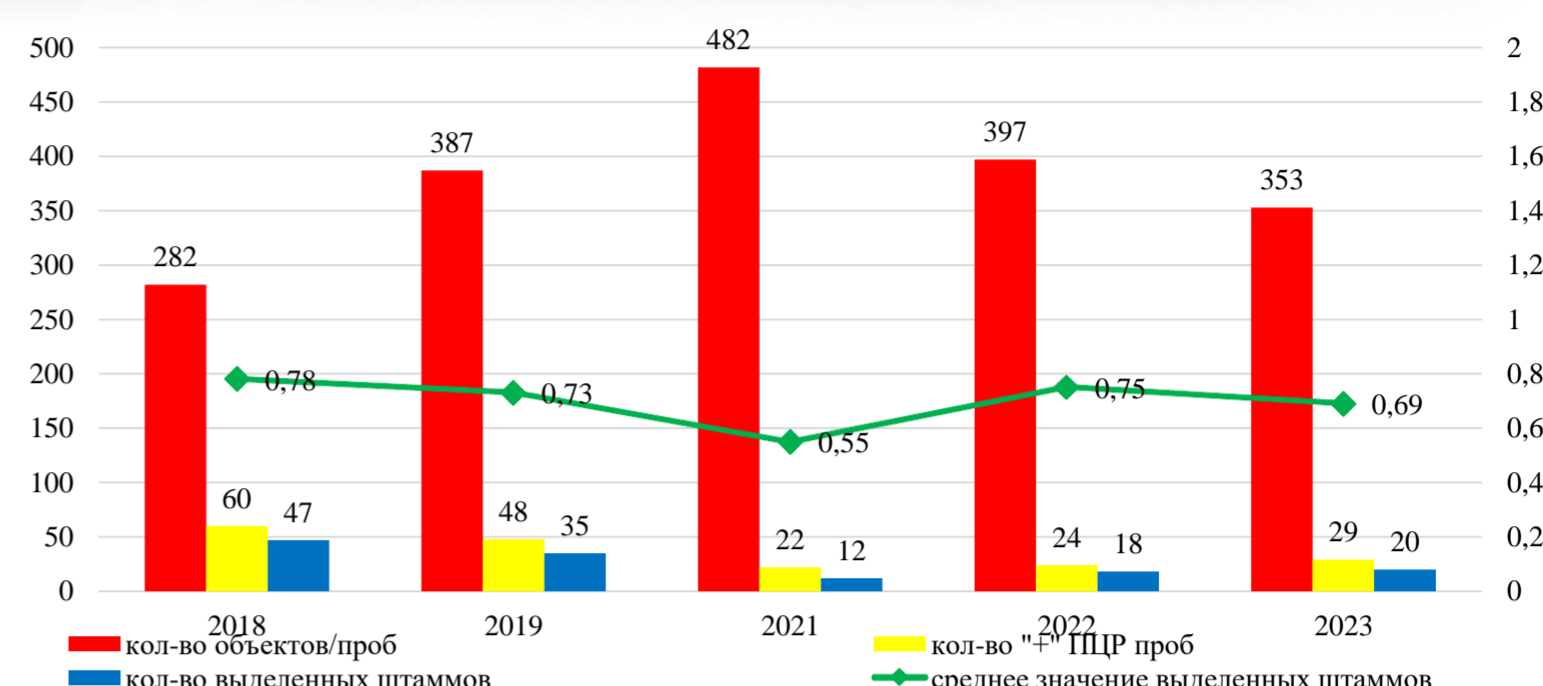


Диаграмма 1. Объем проведенных исследований полевого материала в очаге с учетом среднего значения выделенных штаммов в положительно прореагировавших образцах методом ПЦР

Сопоставляя степень родства изолированных штаммов выявлено, что на одном участке циркулируют генетически отдаленные штаммы чумы основного подвида.

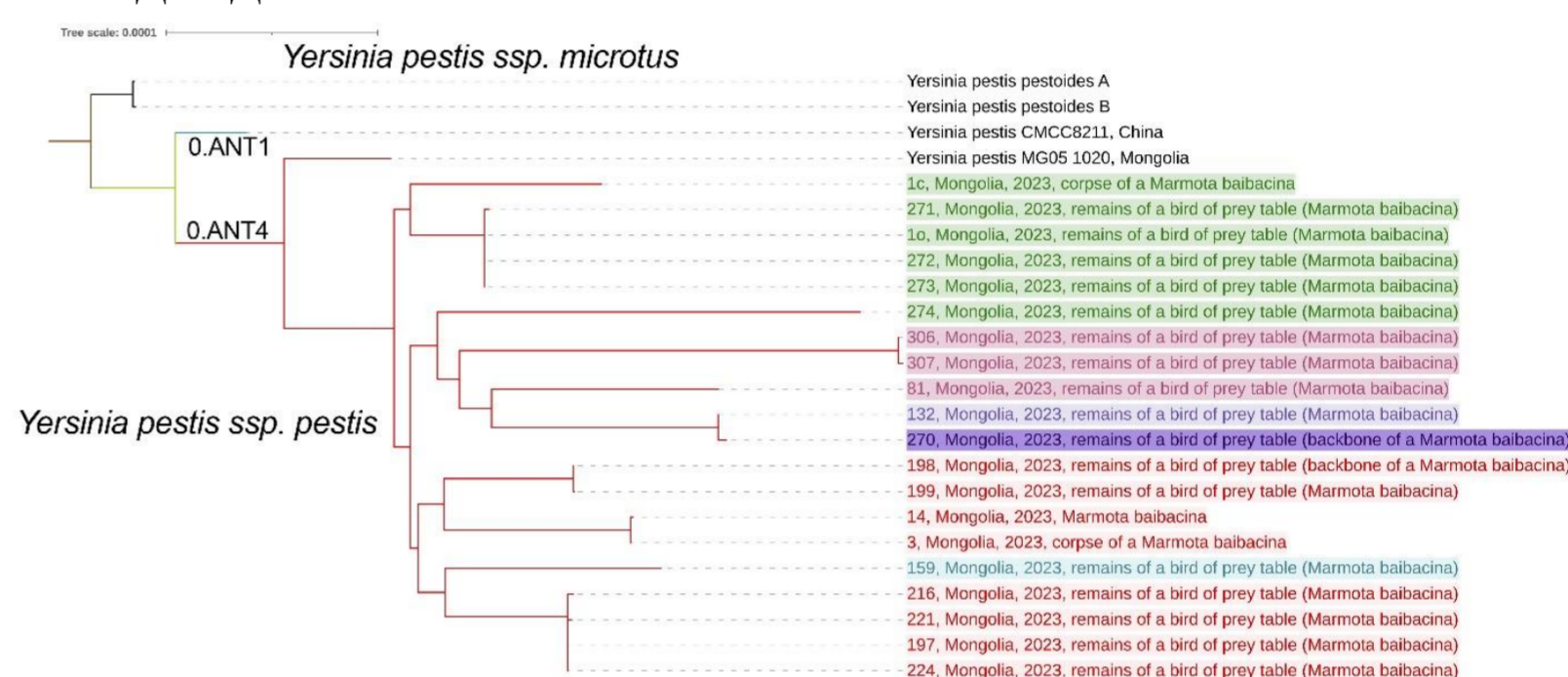


Рисунок 1. Дендрограмма филогенетического родства выделенных штаммов (участки эпизоотий представлены цветом) в пределах монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы (2023 г.)

Для обеспечения задач эпидемиологического благополучия, целесообразно применение новых технологий, позволяющих провести комплексную оценку полученных результатов и, таким образом, дающих возможность: предупредить социально-экономические последствия, обеспечить ограничительные меры и поддержание жизненного уровня населения.

Выводы

Автономность МЛМД послужила основанием эффективности ее использования при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы в условиях труднодоступного высокогорья (2300-2800 м над .ур. м.) и отдаленности от лаборатории (560-700 км.). Отработанный алгоритм проведения выявления генетических маркеров возбудителя методом ПЦР и дальнейшего выполнения бактериологического анализа положительных проб с целью выделения культуры возбудителя, позволил сократить объем и сроки бактериологических исследований, и тем самым дал возможность, менять тактику на момент обследования. Для проведения комплексного анализа ситуации в 2023 году выделенные штаммы (20) основного подвида были исследованы методом полногеномного секвенирования. Генетическое типирование позволило провести геномную паспортизацию и определение филогенетических связей выделенных штаммов. Для обеспечения российской биологической безопасности генетическая информация выгружена на национальную платформу VGARus и передана в Референс-Центр по чуме для дальнейшего углубленного генетического изучения.

Библиография

1. Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы / под ред. С.В. Балахонова, В.М. Корзуна. Новосибирск, 2022. 248 с.
2. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях / Под ред. докт. мед. наук, проф. А.Ю. Поповой. Ижевск: изд-во ООО «Принт», 2018. 336 с.