

LIETUVOS LAPIŲ IR USŪRINIŲ ŠUNŲ POPULIACIJOS FILOGENETINĖ PASIUTLIGĖS VIRUSO ANALIZĖ

Dainius Zienius¹, Eugenijus Jacevičius², Henrikas Žilinskas³, Arūnas Stankevičius⁴

¹*Virusologijos skyrius, Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, Kaišiadorys, LT-4230, tel.: +370 346 60 691, +370 687 50 931; faks. +370 346 60 697; el. paštas: dainzien@yahoo.com,*

²*Virusologinių tyrimų skyrius, Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, J. Kairiūkščio g. 10, Vilnius, LT-08409*

³*Gyvulių reprodukcijos laboratorija, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g.18, Kaunas, LT-47181; el. paštas: hezil@lva.lt*

⁴*Imunologijos laboratorija, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g.18, Kaunas, LT-47181; el. paštas: sarunas@lva.lt*

Santrauka. Šio darbo tikslas – nustatyti nukleoproteino geno sekas ir charakterizuoti pasiutligės viruso (RV) izoliatus, kad būtų galima sužinoti, kokiai viruso grupei (biotipui) priklauso RV, cirkuliojantys Lietuvos rudųjų lapių ir usūrinių šunų populacijose. Analizuoti 22 lapių (8) ir usūrinių šunų (14) RV izoliatai. Nukleoproteino geno regionas buvo amplifikuotas iš RV teigiamų smegenų suspensijos mėginių, o gautos 400 b nukleotidų sekos palygintos su atrinktomis kitomis pasiutligės viruso sekomis iš Latvijos, Estijos, Rusijos, Lenkijos, Vakarų Europos šalių, esančių „GenBank“ duomenų bazėje. Visi Lietuvos pasiutligės viruso izoliatai tarpusavyje buvo filogenetiškai labai artimi ir parodė nukleotidų sekų identiškumą nukleoproteino regione 97,7–100 proc. Filogenetinė nukleoproteino geno analizė taip pat parodė, kad visos Lietuvos padermės priklausė pirmojo pasiutligės viruso genotipo Šiaurės Rytų Europos (NEE) grupei, kuriai priklauso genetiškai labai artimi pasiutligės viruso izoliatai iš Latvijos, Estijos, Lenkijos, Suomijos ir Šiaurės Rytų Rusijos.

Raktažodžiai: pasiutligė, filogenetinė analizė, Lietuva.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF RABIES VIRUS IN LITHUANIAN RED FOX AND RACCOON DOG POPULATIONS

Dainius Zienius¹, Eugenijus Jacevičius², Henrikas Žilinskas³, Arūnas Stankevičius⁴

¹*Department of Virology, Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto g. 2, Kaišiadorys, LT-56115 4230, Lithuania; tel.: +370 34660691; fax. +370 34660697; e-mail: dainzien@yahoo.com,*

²*Department of Virology, National Food and Veterinary Risk Assessment Institute, J. Kairiūkščio g. 10, LT-08409 Vilnius, Lithuania*

³*Laboratory of Animal Reproduction, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės g.18, Kaunas, LT-47181, Lithuania*

⁴*Immunology Laboratory, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania*

Summary. The aim of present work was to determine nucleoprotein region sequences and characterize the rabies virus (RV) isolates in order to know which virus group (biotype) is circulating in Lithuanian population of red foxes and raccoon dogs. A panel of 22 rabies isolates from red foxes (8) and raccoon dogs (14) were collected and studied, originated mainly from the central, eastern and northern regions of Lithuania. The nucleoprotein gene of rabies viruses were amplified from the brains samples and the 400 b nucleotide sequences were compared with those of others selected rabies virus sequences from Latvia, Estonia, Russia, Poland and other West European countries available in the GenBank. All rabies isolates from Lithuania demonstrated a high degree of genetic similarity in nucleoprotein region with nucleotide identity from 97.7% to 100%. Phylogenetic analysis of nucleoprotein gene suggested that all Lithuanian strains were from the North East Europe (NEE) group of the first rabies virus genotype and were closely associated with the rabies isolates from Poland, Latvia, Estonia, Finland, and North-Eastern part of Russia.

Keywords: rabies, phylogenetic analyses, Lithuania.

Įvadas. Pasiutligės virusų (RV) epizootologinė, laboratorinė ir filogenetinė analizė rodo, kad Vakarų Europoje pagrindinis pasiutligės vektorius lieka rudosios lapės (*Vulpes vulpes*), tačiau Rytų ir Šiaurės Europoje pasiutligės virusų perdavimo veiksniai keičiasi – šiuose regionuose usūriniai šunys (*Nyctereutes procyonides*) ir arktinės lapės (*Alopex vulpes*) ima vyrauti infekcijos grandinėje (Wandeler, 2008). Manoma, kad usūriniai šunys Rytų Europoje gali sudaryti atskirą, nepriklausomą RV infekcinę ciklą (Potzsch et al., 2006), bet šiuos teiginius patvirtinti

tyrimų nepakanka. Pasiutligės epizootinės situacijos kokybiniai evoliuciniai-adaptaciniai procesai stebimi ir Lietuvos teritorijoje, kur per 2005 metus buvo nustatyti 599 usūrinių šunų ir 533 lapių pasiutligės atvejai. 2006 m. pasiutligės dinamika usūrinių šunų populiacijoje buvo dar aktyvesnė: nustatyti 987 susirgimai – 300 daugiau nei lapių pasiutligės (Matouch, 2008). Tokia epizootinio proceso augimo tendencija ypač kelia nerimą mokslininkams ir inicijuoja RV adaptacinių savybių filogenetinius tyrimus.

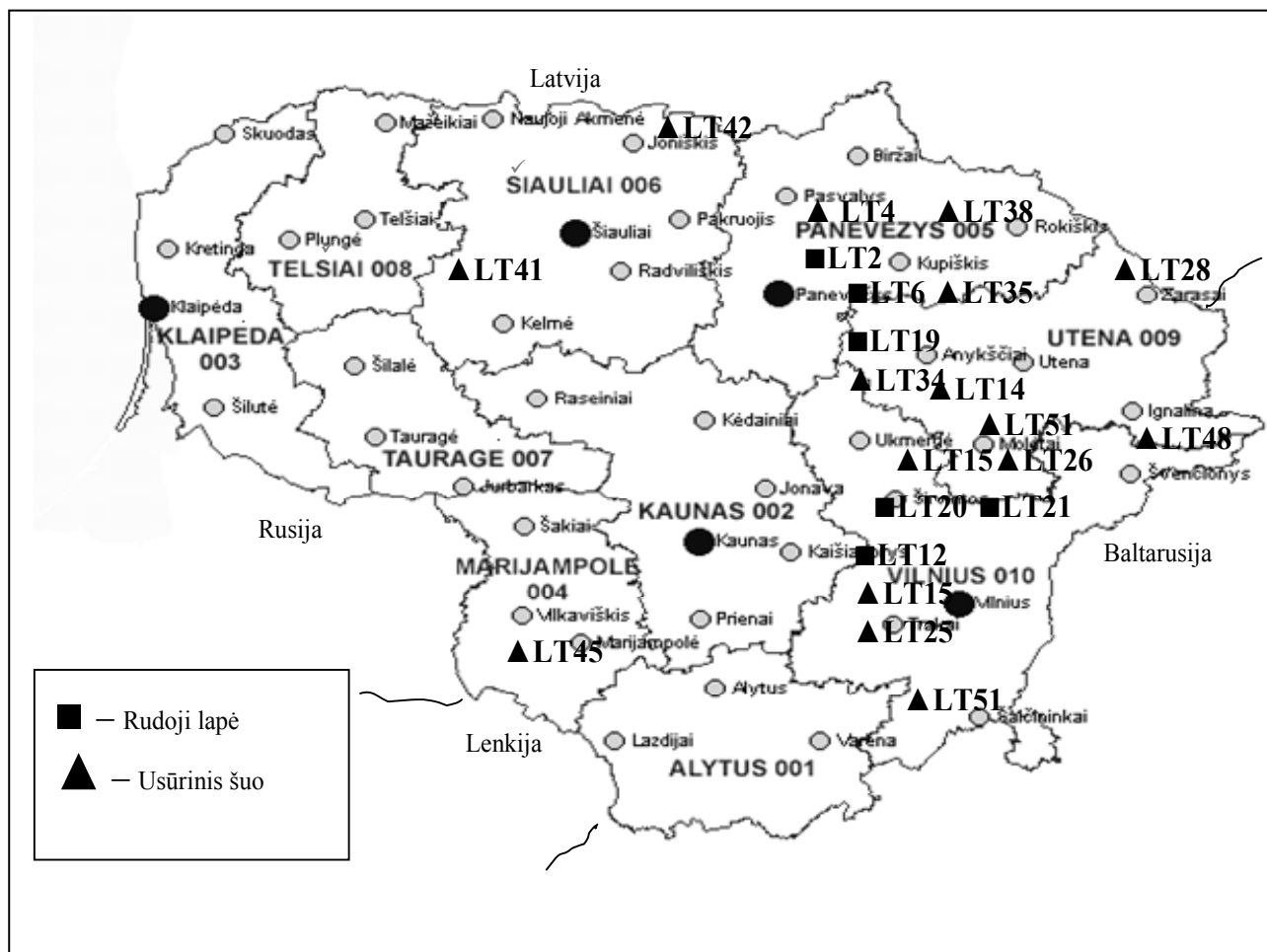
Biocheminiu požiūriu visas RV genomus sudarytas iš 11931 nukleotidų (nt): nukleoproteinas N (1350 nt), fosfoproteinas P (891 nt), matricos proteinas M (606 nt), glikoproteinas G (1572 nt), RNR priklausoma RNR-polimerazė L (6384 nt) bei Psi regionas, arba G-L tarpregioninis regionas (400 nt), gali būti sekvenuojamas, o duomenys įtraukti į filogenetinę analizę (Wu et al., 2007). Vertingiausi epizootologinių požiūriu duomenys gaunami tiriant nukleoproteino N ir glikoproteino G genų regionus. RV nukleoproteino genetinę analizę, panaudojant atvirkštinės transkripcijos polimerazės grandininę reakciją (AT-PGR) (Sacramento et al., 1991), leido įvertinti pasiutligės sukėlėjo geografinius ir rūšinius ypatumus – identifikuoti 11 RV genotipų skirtinguose pasaulio geografiniuose arealuose (Kissi et al., 1995) ir atlikti visos *Lyssavirus* šeimos pasiutligės virusų genetinį tipizavimą (Vazques-Moron et al., 2006).

RV filogenetinę analizę ir virusų kintamumo tyrimai Europoje (McElhinney et al., 2006) atliekami nuolatos, nustatyta daug RV filogenetinių tipų ir geografinių grupių, bet Lietuvoje tokie tyrimai iki šiol atlikti nebuvo. Tik vienas lietuviškas pasiutligės sergančio šuns virusų izoliatas (1992) buvo naudojamas pasiutligės virusų genetinei analizei (Bourhy et al., 1999), tačiau net ir jo sekvenavi-

mo duomenys nebuvo įtraukti konstruojant filogenetinius medžius. Dėl šių priežasčių filogenetiniu požiūriu buvo būtina išsiaiškinti, koks RV yra paplitęs Lietuvos laipų ir usūrinių šunų populiacijose. Daugelis mokslininkų filogenetinių tyrimų reikšmę įžvelgia ir Baltarusijoje, Ukrainoje, Rusijos Kaliningrado srityje, kur RV praktiškai ne-tyrinėtas. Akcentuojama ir regioninių RV izoliatų genetinės analizės svarba, ruošiant bendras laukinių gyvūnų pasiutligės oralinės vakcinacijos programas (McElhinney et al., 2008).

Darbo tikslas – atlikti laipų ir usūrinių šunų pasiutligės virusų filogenetinę analizę nukleoproteino geno regione ir nustatyti, kokio geografinio tipo pasiutligės virusai cirkuliuoja Lietuvos laipų ir usūrinių šunų populiacijose.

Medžiagos ir metodai. Tyrimui atrinkti 22 pasiutligės mėginiai. Nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje jie buvo patvirtinti kaip teigiami pasiutligės viruso atžvilgiu pagal standartizuotus Tarptautinio epizootijų biuro metodus – imunofluorescencinį (FAT) ir laboratorinių pelių užkrėtimo (MIT) (OIE, 2000; WHO, 2004; OIE, 2004). Mėginiai rinkti 2005–2006 metais iš skirtingų Lietuvos regionų (1 pav.), prieš pradėdant Lietuvoje laukinių gyvūnų oralinę pasiutligės vakcinaciją.



1 pav. Lapių ir usūrinių šunų RV izoliatų, panaudotų filogenetinėje analizėje, geografinis pasiskirstymas

Virusinės RNR ekstrakcija iš infekuotų smegenų suspensijos atlikta TRIzol metodu (Invitrogen, Life Technologies, MD, USA) pagal gamintojo rekomendacijas. AT-PGR atlikta pagal standartinį protokolą (Amengual et al., 1997), panaudojant nukleotidų pradmenis N12 (5'-GTAACACCTCTACAATGG-3', 57-74 nt) ir N8 (5'-AGTTTCTTCAGCCATCTC-3', 1585-1568 nt). PGR buvo naudojamas 50 µl reakcijos mišinys: 5 µl išskirtos RNR, 5 µl 10x PGR buferio (Fermentas), 5 µl MgCl₂ (25 mM, Fermentas), 2 µl dNTPs (10 mM, Fermentas), 5 pmol kiekvieno pradmens N12 ir N8, 0,5 µl (2.5 U) Taq DNA polimerazės (Fermentas), 0,25 µl (10 U) RNasin (Promega, Madison, WI, USA), 0,5 µl (100 U) MMLV atvirkštinės transkriptazės (Life Technologies). Reakcijos ciklai: 42°C temperatūroje 30 min atvirkštinė transkripcija, 95°C temperatūroje 5 min pradinė denaturacija, po to – 35 amplifikavimo ciklai: 94°C temperatūroje 40 s, 56°C temperatūroje 40 s ir 72°C temperatūroje 1 min. Lizdinė PGR atlikta panaudojant nukleotidų pradmenis N53 (5'-GGATGCCGACAAGATTGTAT-3', 73-92 nt pagal PV sekas) ir N55 (5'-CTAAAGACGCATGTTTCAGAG-3', 491-472 nt pagal PV sekas). Panaudota 2 µl PGR I produkto ir 48 µl reakcijos mišinys: 5 µl 10x PGR buferis (Fermentas), 5 µl MgCl₂ (25 mM, Fermentas), 2 µl dNTPs (10 mM, Fermentas), 20 pmol kiekvieno lizdinio pradmens N53 ir N55, 0,5 µl (2.5 U) Taq DNA polimerazė (Fermentas). Reakcijos 35 ciklai: 94°C temperatūroje 30 s, 60°C temperatūroje 30 s ir 72°C temperatūroje 40 s. Galutinis pradmenų išplėtimas – 72°C temperatūroje 10 min. Jis baigia reakcijos amplifikacijos procesą, ir gaunamas 400 bazių porų (bp) produktas. Reakcijos DNR išvaloma po standartinės elektroforezės 1,5 proc. agarozės gelyje, panaudojant „Nucleospin Extract II kit“ (Macherey-Nagel GmbH, Germany) pagal gamintojo pateiktą protokolą. Išvalytas reakcijos produktas sekvenuojamas panaudojant „BigDye™ Terminator Cycle Sequencing kit“ (v2.0, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ir ABI310 genetinį analizatorių (Applied Biosystems). RV nukleoproteino abiejų grandžių sekvenavimui panaudoti analogiški lizdinei PGR nukleotidų pradmenys. Nukleotidų sekų chromatogramas analizuotas ir sujungtos SeqMan programa, o filogenetinė analizė atlikta „Clustal W“ programa iš MegAlign Lasergene programinio paketo (Lasergen, DNASTAR, Inc., Madison, USA). Filogenetinei analizei taip pat panaudotas maksimalaus identiškumo sekų atrankos algoritmas iš „CLC Free Workbench 3.2.3“ programinio paketo (CLC bios A/S, Danija).

Tyrimų rezultatai. AT-PGR 400 bp produktų sekvenavimas sėkmingai pavyko visuose 22 FAT ir MIT metodais atrinktuose RV mėginiuose iš skirtingų Lietuvos rajonų. Filogenetinei analizei buvo panaudotos viešojoje duomenų bazėje pateiktos RV didžiausius skirtumus turėjusios nukleotidų sekos, reprezentuojančios Europoje paplitusias pagrindines RV pogrupių sekas (lentelė). „Clustal W“ algoritmo apskaičiuotas nukleotidų sekų procentinis identiškumas parodė, kad visi 2005–2006 metais Lietuvoje surinkti 22 RV mėginiai buvo genetiškai labai artimi (97,7–100 proc.). Lyginant atskirus skirtingų Lietuvos regionų RV izoliatus, pavyzdžiui, LT24 (Vilniaus r.,

2006), LT48 (Švenčionių r., 2006) ir LT45 (Marijampolės r., 2006) pastebėta, kad filogenetiškai jie buvo labai artimi estų 9339EST (1991) ir latvių 9904LV (2003) usūrinių šunų RV (nukleotidų sekų identiškumas 98,8–99,5 proc.). Tuo tarpu usūrinių šunų (2 pav.) RV izoliatai iš Šalčininkų (LT51, 2005) ir Molėtų (LT52, 2005) filogenetiškai artimesni rusiškiems RV izoliatams RV309RUS, RV245RUS (2004), kurių nukleotidų sekų identiškumas buvo 99,8 proc. Rudųjų lapių populiacijoje paplitusių RV filogenetinė analizė (3 pav.) parodė, kad visi lapių RV izoliatai nukleoproteino geno srityje taip pat yra filogenetiškai labai artimi, kaip ir usūrinių šunų. Skirtingų izoliatų nukleotidų sekų identiškumas tarp lapių siekė 99,5–100,0 proc. Sekos buvo 99,5–100 proc. tapačios lenkiškoms, estiškoms, latviškoms bei rusiškiems RV padermėms, kurios filogenetiniame medyje suformavo aiškiai atskirtą pogrupį nuo kitų RV padermių, paplitusių Europoje.

Usūrinių šunų ir rudųjų lapių nukleoproteino geno sekų analizė rodo, kad lietuviški RV izoliatai kartu su kaimyninių šalių pasiutligės viruso padermėmis filogenetiniuose medžiuose formuoja aiškiai apibrėžtas filogenetines šakas (2, 3 pav.), turinčias didesnę nei 90 plėtros dydį (bootstrap value), kuris laikomas statistiškai reikšmingas, jeigu yra ne mažesnis už 70.

Usūrinių šunų ir rudųjų lapių filogenetiniai medžiai rodo, kad lietuviškos RV padermės patenka į L. M. McElhinney ir kitų tyrėjų (2006) apibrėžtą Šiaurės Rytų Europos pogrupį – NEE, kuris statistiškai aiškiai skiriasi nuo Vidurio ir Vakarų Europos pogrupio, apimančio daugelį lapių RV nukleotidų sekų (3 pav.), taip pat D pogrupio, būdingo vakariniam Rusijos regionui.

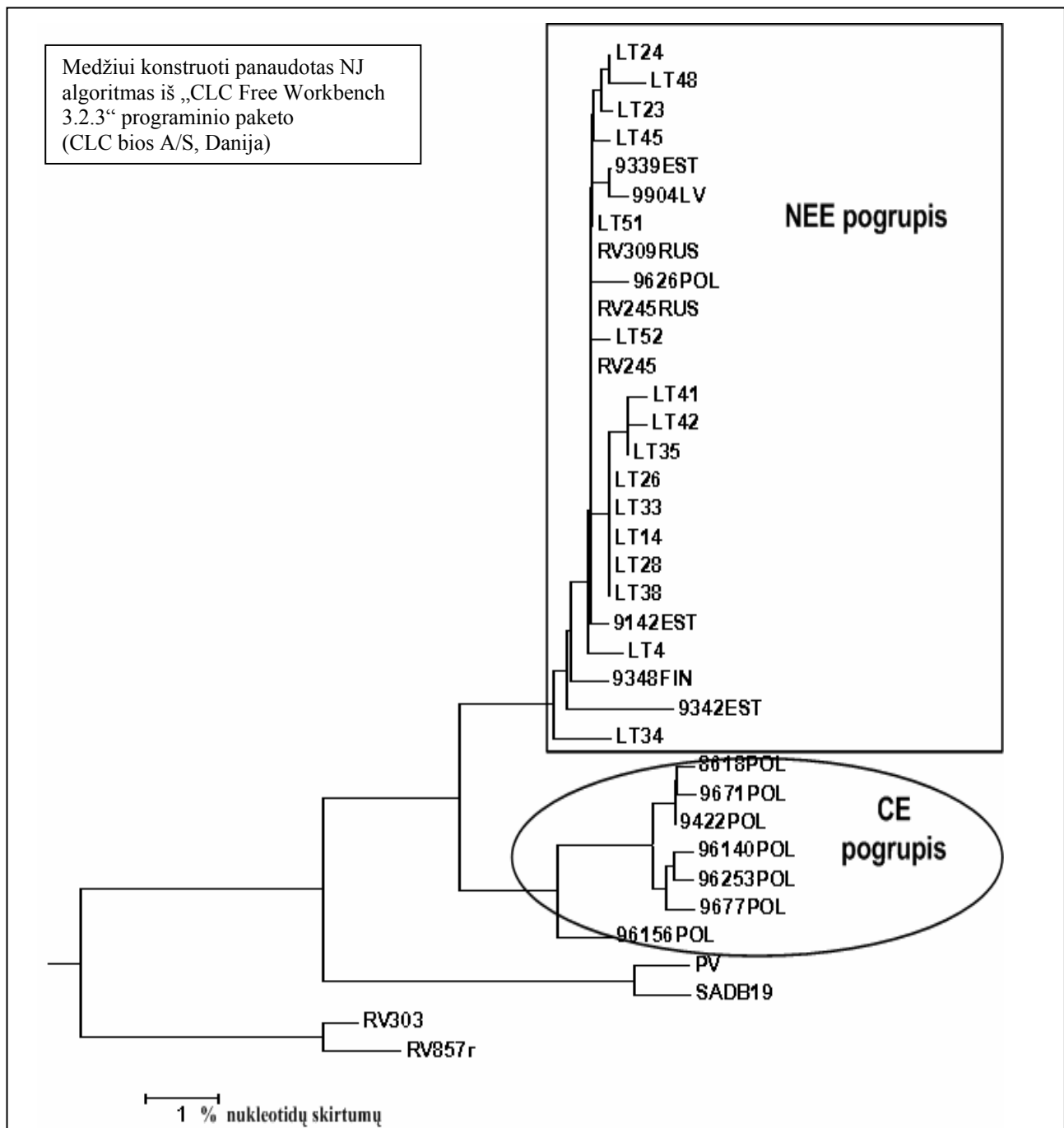
Aptarimas ir išvados. Duomenų apie Lietuvoje paplitusius RV padermes iki šių tyrimų paskelbta nebuvo, todėl filogenetinių tyrimų rezultatai šiuo atveju yra įdomūs ne tik moksliniu, bet ir praktiniu požiūriu, mat šiuo metu Lietuvoje įgyvendinama Europos Sąjungos finansuojama laukinių gyvūnų pasiutligės prevencijos programa. Mūsų atlikti rudųjų lapių ir usūrinių šunų populiacijos RV tyrimai atskleidė glaudų genetinį ryšį tarp skirtingų RV izoliatų, nenustatant rūšinio arba regioninio specifiškumo. Rudųjų lapių ir usūrinių šunų RV izoliatai tarpusavyje filogenetiškai buvo labai artimi (nukleotidų sekų identiškumas 97,7–100 proc.). Tas sąlygoja pirminę išvadą apie tiesioginį viruso plitimą tarp minėtų rūšių ir bendrą sukėlėjo cirkuliaciją šiose populiacijose. Nedideli nukleotidų sekų skirtumai (iki 1,5 proc.) leidžia manyti, kad RV nėra labai vienalytis lapių ir usūrinių šunų populiacijose, o skirtumai atsiranda dėl nukleoproteino regiono taškinių mutacijų, susijusių su RV adaptacija skirtingų rūšių gyvūnuose.

Mūsų tyrimai taip pat parodė, kad tam tikras nukleotidų sekų heterogeniškumas pastebimas ir usūrinių šunų populiacijos viduje (2 pav.). Filogenetinė analizė rodo, kad Lietuvoje usūrinių šunų RV galima sąlyginai suskirstyti į dvi grupes, iš kurių viena daugiau panaši į Latvijos ir Estijos RV padermes, o kita filogenetinė grupė – labiau į Rusijos vakariniuose rajonuose paplitusių RV. Reikia pažymėti, kad šie skirtumai statistiškai nepatikimi, filogenetiniuose medžiuose apskaičiuotas plėtros dydis buvo mažesnis už 70, todėl galima kalbėti tik apie tam tikras usū-

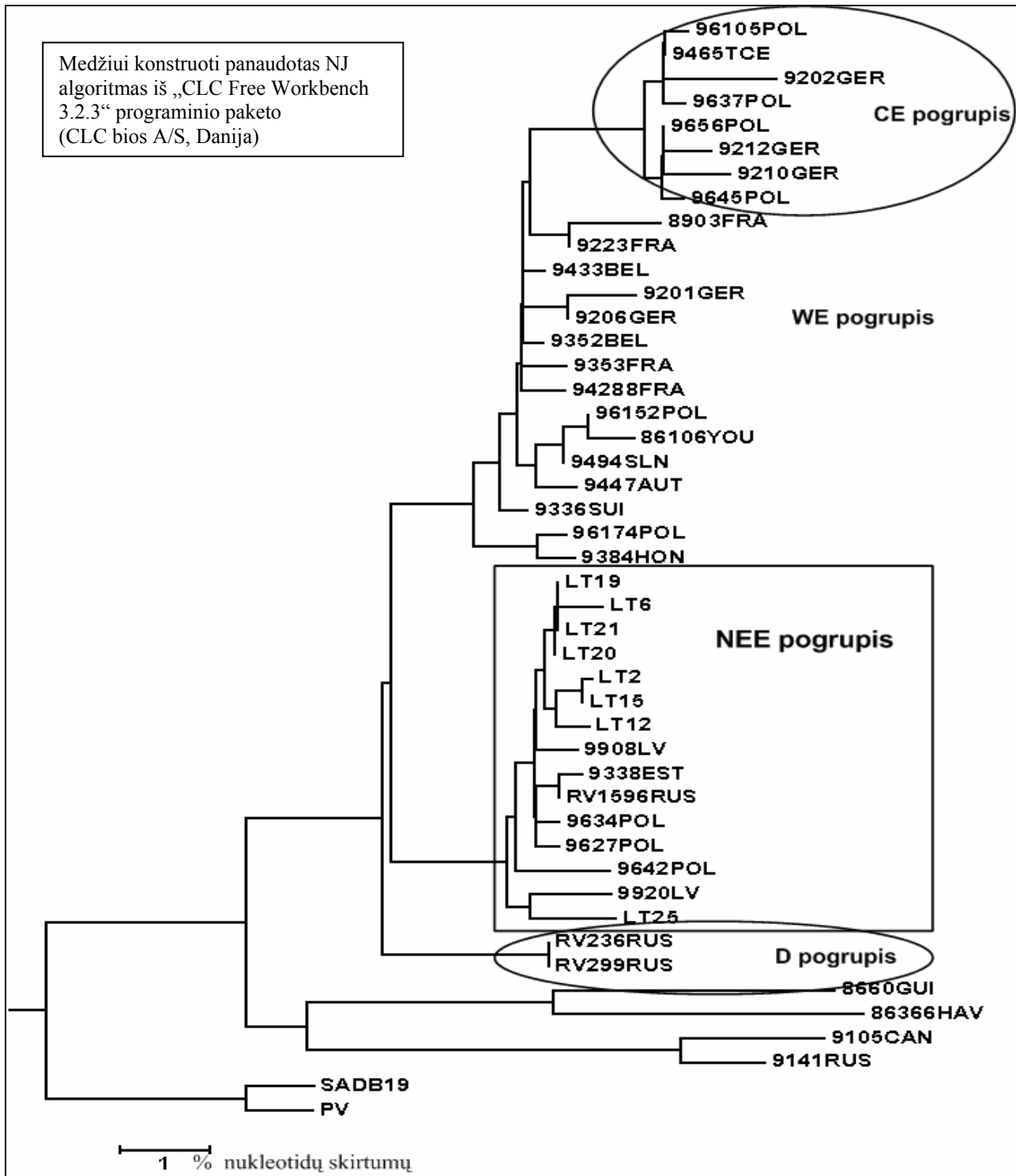
rinių šunų RV nukleotidų sekų skirtumo tendencijas. Skirtumams patvirtinti arba paneigti reikalingi platesnio masto tyrimai.

Nukleoproteino geno filogenetinė analizė labai aiškiai parodė, kad visi Lietuvos RV priklauso pirmam genotipui ir priskiriami Šiaurės Rytų Europos geografinėi grupei (NEE). NEE grupė regioniniu principu apima Vakarų Rusijos, Suomijos, Estijos, Latvijos, Lenkijos ir Slovakijos teritorijas (McElhinney et al., 2006). Lenkijoje identifikuojamos keturios RV filogenetinės grupės, o geografiniu požiūriu vakarinė NEE riba eina Lenkijos teritorijoje natūraliu gamtiniu barjeru – Vyslos upe. Taigi Lenkijos teritorijoje identifikuojamos dvi RV geografinės grupės –

NEE ir Vidurio Europos (CE) (Sadkowska-Todys et al., 2005). Tiek Latvijos (Vanaga et al., 2003; McElhinney et al., 2006), tiek Estijos (McElhinney et al., 2006; Metlin et al., 2007) RV izoliatai filogenetiškai priskiriami NEE grupei, nepriklausomai nei nuo izoliavimo datos (mėginiai buvo renkami 1989–2000 metais), nei nuo virusų rūšinio priklausomumo. Lietuviškų, latviškų bei estiškų, dalies Lenkijos ir Rusijos RV izoliatų filogenetinis identiškas (97,7–100 proc.) leidžia manyti, kad visi jie praėjo bendrą konservatyvų evoliucinį procesą, tačiau nauja virusų adaptacija usūrinių šunų populiacijoje neleidžia RV padermes laikyti visiškai tapačiomis.



2 pav. Lietuvos usūrinių šunų populiacijoje paplitusio RV nukleoproteino geno 400 b filogenetinė analizė



3 pav. Lietuvos rudųjų lapių populiacijoje paplitusio RV nukleoproteino geno 400 b filogenetinė analizė

Europoje lapės išlieka principinis pasiutligės vektorius, bet epizootinė situacija keičiasi. Dėl sėkmingų oraliųjų vakcinacijų, kurių pagrindinis objektas buvo lapės, pasiutligės atvejų žymiai sumažėjo ir 2006 m. Europos laboratorijose buvo diagnozuoti 6000 lapių pasiutligės susirgimų, daugiausia – Baltijos šalyse, Rusijos Federacijoje, Baltarusijoje, Ukrainoje ir Kroatijoje (Blancou, 2008). Šiose šalyse susirgimų lapių pasiutlige taip pat sparčiai mažėja (per pastaruosius 5 metus – 32 proc.), bet

daugėja usūrinių šunų susirgimų (ypač Baltijos jūros regione). Pastarųjų metų filogenetiniai RV tyrimai įrodo, kad virusų „migracija“ tarp skirtingų imlių rūšių istoriniu ir ekologiniu požiūriu yra įprasta, kaip, pavyzdžiui, klasikinės šunų pasiutligės RV adaptacija rudųjų lapių populiacijoje Vakarų Europoje arba skunkų ir kitų mėsėdžių populiacijoje Šiaurės Amerikoje (Smith et. al., 1992; Velasco-Villa et.al., 2005). Pasiutligės plitimo usūrinių šunų populiacijoje tendencijas galima paaiškinti ne tik virusų

filogenetiniu kintamumu, bet ir šių gyvūnų ekologiniais aspektais: dukart didesniu nei lapių vislumu, aktyvia konkurencija su lapėmis dėl mitybos plotų, plačiu mitybos spektru, ilga RV persistencijos faze žiemos miego periodu. Tai tiesiogiai veikia populiacijos koncentraciją – kai kuriuose Suomijos regionuose usūrinių šunų populiacijos yra dukart didesnės nei lapių (Holmala, Kauhala, 2006), o tai vienas iš pagrindinių pasiutligės perdavimo veiksnių. Įgyvendinus nacionalines pasiutligės oralinės vakcinacijos programas, 60–80 proc. sumažėjo lapių pasiutligės susirgimų (imlių individų koncentracija minimali ir neužtikrina RV plitimo infekcijos grandinėje), tačiau kito svarbiausio pasiutligės vektoriaus – usūrinių šunų – koncentracija didėja. Nors usūrinių šunų populiacijos gausa dar nesiekia ribinės koncentracijos, leidžiančios užtikrinti

pasiutligės vienaarūšinį perdavimą, abi šios rūšys kartu gali užtikrinti pasiutligės plitimą tam tikrose teritorijose. Tėnka pripažinti ir pakartotiną užkrėtimo grėsmę „laisvuose“ nuo pasiutligės regionuose ir peržiūrėti nacionalinių pasiutligės oralinių vakcinacijų strategiją, vertinant usūrinių šunų populiacijos ekologinius veiksnius (Holmala, Kauhala, 2006).

Lietuvoje tyrimų metu nustatyti NEE pogrupio RV leidžia manyti, kad visos oficialiai registruotos gyvos atenuotos klasikinės pasiutligės vakcinos gali būti sėkmingai panaudotos pasiutligės prevencijai usūrinių šunų ir lapių populiacijoje, nes vakcinų gamyboje yra dažniausiai naudojamos klasikinės PV arba SADB19 padermės, kurios gana veiksmingos visiems Europoje paplitusiems RV pogrupiams, taip pat ir NEE RV.

Lentelė. Filogenetinei analizei ir medžių konstravimui panaudotos duomenų bazėje „GenBank“ pateiktos RV nukleotidų sekos, kurios reprezentuoja Europoje paplitusias pagrindines RV pogrupių sekas. Filogenetinės grupės pateikiamos pagal H. Bourhy ir kt. (1999), I. V. Kuzmin ir kt. (2004) klasifikaciją: Vidurio Europa (CE), Rytų Europa (EE), Vakarų Europa (WE), Šiaurės Rytų Europa (NEE), europinė Rusijos dalis (D).

Nr.	Šalis	Padermės Nr. ir šalies santrumpa	Nuoroda / šaltinis	Gyvūno rūšis	Metai	Gen Bank katalogo Nr.	Filogenetinė grupė
1	Austrija	9447AUT	W. Schuller	Rudoji lapė	1994	U42708	WE
2	Belgija	9352BEL	F. Cocty	Rudoji lapė	1991	U42709	WE
3		9433BEL	D. Peharpe	Rudoji lapė	1994	U42713	WE
4	Čekija	9465CZ	O. Matouch	Rudoji lapė	1994	U43010	WE
5	Estija	9142EST	Kissi et al. (1995)	Usūrinis šuo	1985	U22476	NEE
6		9338EST	K. Kulonen	Rudoji lapė	1992	U42707	NEE
7		9339EST	K. Kulonen	Raccoon dog	1991	U42707	NEE
8		9342EST	K. Kulonen	Usūrinis šuo	1991	U43432	NEE
9	Buvusi Jugoslavijos Fed. Resp.	86107YOU	M.Petrovic	Rudoji lapė	1976	U42703	NC
10		86106YOU	Kissi et al. (1995)	Rudoji lapė	1972	U22839	WE
11	Suomija	9348FIN	K. Kulonen	Usūrinis šuo	1988	U42716	NEE
12	Prancūzija	9223FRA	J.Barrat	Rudoji lapė	1974	U43433	WE
13		8903FRA	Institut Pasteur	Rudoji lapė	1989	U42606	WE
14		9353FRA	Institut Pasteur	Rudoji lapė	1993	U42717	WE
15		94288FRA	Institut Pasteur	Rudoji lapė	1994	U42992	WE
16	Vokietija	9202GER	K. Stohr	Rudoji lapė	1991	U42701	CE
17		9201GER	K. Stohr	Rudoji lapė	1991	U42994	WE
18		9206GER	K. Stohr	Rudoji lapė	1991	U42996	WE
19		9210GER	K. Stohr	Rudoji lapė	1991	U42997	CE
20		9212GER	K. Stohr	Rudoji lapė	1991	U22475	CE
21	Vengrija	9384HON	E. Moskari	Rudoji lapė	1993	U42999	EE
22	Latvija	01LAT	Vanaga et al. (2003)	Rudoji lapė	1999	AY277570	NEE
23		9902LV	Vanaga et al. (2003)	Šuo	1999	AY277571	NEE
24		9904LV	Vanaga et al. (2003)	Usūrinis šuo	1999	AY277572	NEE
25		9908LV	Vanaga et al. (2003)	Rudoji lapė	1999	AY277573	NEE
26		9918LV	Vanaga et al. (2003)	Šuo	1999	AY277576	NEE
27		9920LV	Vanaga et al. (2003)	Rudoji lapė	1999	AY277577	NEE
28	Lietuva	9345LT	K. Kulonen	Šuo	1992	U43002	NEE
29	Lenkija	9623POL	D. Seroka	Šuo	1991	AF033871	NEE
30		9642POL	D. Seroka	Rudoji lapė	1996	AF033879	NEE
31		9626POL	D. Seroka	Usūrinis šuo	1986	AF033874	NEE
32		9627POL	D. Seroka	Rudoji lapė	1987	AF033875	NEE
33		9634POL	D. Seroka	Rudoji lapė	1987	AF033876	NEE
34		96174POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1994	AF033886	EE
35		96152POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1995	AF033884	WE
36		9645POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1993	AF033891	CE

Nr.	Šalis	Padermės Nr. ir šalies santrumpa	Nuoroda / šaltinis	Gyvūno rūšis	Metai	Gen Bank katalogo Nr.	Filogenetinė grupė
37.	Lenkija	9656POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1993	AF033892	CE
38.		9422POL	J. F. Zmudzinski	Usūrinis šuo	1993	U43004	CE
39.		96253POL	J. F. Zmudzinski	Usūrinis šuo	1996	AF033903	CE
40.		9637POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1996	AF033890	CE
41.		96105POL	J. F. Zmudzinski	Rudoji lapė	1995	AF033898	CE
42.		96140POL	J. F. Zmudzinski	Usūrinis šuo	1993	AF033900	CE
43.		8618POL	Kissi et al. (1995)	Usūrinis šuo	1985	U22840	CE
44.		9671POL	D.Seroka	Usūrinis šuo	1993	AF033895	CE
45.		9677POL	D.Seroka	Usūrinis šuo	1994	AF033893	CE
46.		96156POL	J. F. Zmudzinski	Usūrinis šuo	1993	AF033886	CE
47.	Rusija	RV309RUS	Kuzmin et al.2004	Usūrinis šuo	2004	AY352504	NEE
48.		RV245RUS	Kuzmin et al.2004	Žmogus	2004	AY352475	NEE
49.		RV1596RUS	Kuzmin et al.2004	Rudoji lapė	2004	AY353876	NEE
50.		RV236RUS	Kuzmin et al. 2004	Rudoji lapė	2004	AY352506	D
51.		RV299RUS	Kuzmin et al. 2004	Rudoji lapė	2004	AY352479	D
52.		9141RUS	Kissi et al. (1995)	Arktinė lapė	1990	U22656	NC
53.		RV303	Kuzmin et al. 2004	Usūrinis šuo	2004	AY352505	B
54.		RV857r	Kuzmin et al. 2004	Usūrinis šuo	2004	AY352458	B
55.	Šveicarija	9336SUI	R. Zanoni	Rudoji lapė	1992	U43006	WE
56.	Slovėnija	9494SLN	P. Hostnik	Rudoji lapė	1994	U43009	WE
57.	Laboratorinis virusas	PV	Tordo et al. (1986)	Vakcininė padermė	1986	D42112	NC
58.	Kanada	9105CAN	Kissi et al. (1995)	Rudoji lapė	1990	U22655	NC
59.	Gvinėja	8660GUI	Kissi et al. (1995)	Šuo	1986	U22637	NC
60.	Burkina Fosas	8636HAV	Kissi et al. (1995)	Šuo	1986	U22486	NC

Padėka. Pasiutligės virusų tyrimus Lietuvos laukinių gyvūnų populiacijoje rėmė Lietuvos valstybinio mokslo ir studijų fondas (Sut. Nr. T – 48/08). Straipsnio autoriai taip pat dėkingi Nacionaliniam maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutui už pagalbą renkant pasiutligės mėginius tyrimams.

Literatūra

- Amengual B., Whitby J. E., King A., Serra-Cobo J., Bourhy H. Evolution of European bat lyssaviruses. *J. Gen. Virol.* 1997. T. 78. P. 2319–2328.
- Anon. Office International des Epizooties (O. I. E). Manual of standards Diagnostic Tests and Vaccines. Chap.2. 2. 5. Rabies. 2000. P. 2–5.
- Anon. Office International des Epizooties (O. I. E). Manual of Standards Diagnostic and Vaccines. Rabies. Chapter 2. 2. 5. 2004. P. 2–5.
- Anon. World Health Organization (WHO). WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO Tech. Rep. Ser. 931. Geneva. Switzerland. 2004. P. 20–30.
- Blancou J. The Control of Rabies in Eurasia: Overview, History and Background. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger.* 2008. V.131. P. 3–15.
- Bourhy H., Kissi B., Audry L., Smreczak M., Sadkowska-Todys M., Kulonen K., Tordo N., Zmudzinski J.F., Holmes E. D. Ecology and Evolution of rabies virus in Europe. *J. Gen. Virol.* 1999. N. 80. P. 2545–2557.
- Holmala K., Kauhala K. Ecology of wildlife rabies in Europe. *Mammal. Rev.* 2006. N. 36. P. 17–36.
- Kauhala K., Holmala K. Contact rate and risk of rabies spread between medium-sized carnivores in southeast Finland. *Ann. Zool. Fenn.* 2006. N. 43. P. 348–57.
- Kuzmin I. V., Botvinkin A. D., McElhinney L. M., Smith J. S., Orciari L. A., Hughes G. J., Fooks A. R., Rupprecht C. E. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildl. Dis.* 2004. N. 40 (4). P. 617–631.
- Kissi B., Tordo N., Bourhy H. Genetic Polymorphism in the Rabies Virus Nucleoprotein Gene. *Virology.* 1995. N. 209. P. 526–537.
- Matouch O. The rabies situation in Eastern Europe. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger.* 2008. V. 131. P. 27–35.
- McElhinney L.M., Marston D., Johnson N., Black C., Matouch O., Lalosevic D., Stankov S., Must K., Smreczak M., Zmudzinski J. F., Botvinkin A., Aylan O., Vanek E., Cliquet F., Muller T., Fooks A.R. Molecular epidemiology of rabies viruses in Europe. *Rabies in Europe. Dev. Biol. Basel. Karger.* 2006. V. 125. P. 17–28.

13. McElhinney L. M., Marston D. A., Stankov C., Tu C., Black C., Johnson N., Jiang Y., Tordo N., Muller T., Fooks A. R. Molecular epidemiology of Lyssaviruses in Eurasia. Towards the Elimination of Rabies In Eurasia. *Dev. Biol. Basel. Karger*. 2008. V. 131. P. 125–131.
14. Metlin A. E., Rybakov S., Gruzdev K., Neuvonen E., Huovilainen A. Genetic heterogeneity of Russian, Estonian and Finnish field rabies viruses. *Arch. Virol*. 2007. N. 152 (9). P. 1645–1654.
15. Potzsh C.J., Kliemt A., Kloss D., Schroder R., Muller W. Rabies in Europe – trends and development. Rabies in Europe. *Dev. Biol. Basel. Karger*. 2006. V. 125. P. 59-68.
16. Sacramento D., Bourhy H., Tardo N. PCR technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus. *Mol. Cell. Probes*. 1991. N.5. P. 229–240.
17. Sadkowska-Todys M., Rosinska M., Smreczak M., Czerwinski M., Zmudzinski J. F. Rabies surveillance, trends in animal rabies and human post-exposure treatment in Poland, 1990-2004. *Euro Surveill*. 2005. N. 10 (11). P. 226–228.
18. Smith J. S., Orciari L. A., Yager P. A., Seidel H. D., Warner C. K. Epidemiologic and historical relationships among 97 rabies virus isolates as determined by limited sequence analysis. *J. Infect. Dis*. 1992. N. 166. P. 296–307.
19. Vazquez-Moron S., Avellon A., Echevarria J. E. RT-PCR for detection of all seven genotypes of Lyssavirus genus. *J. Virol. Methods*. 2006. N. 135 (2). P. 281–287.
20. Vanaga S., Van der Heide R., Joffe R., Van der Poel W.H. Rabies in wildlife in Latvia. *Vect. Borne Zoonot. Dis*. (2003) 3(3): 117–124.
21. Velasco-Villa A., Orciari L. A., Souza V., Juarez-Islas., Gomez-Sierra M., Castillo A., Flisser A., Rupprecht C. E. Molecular epizootology of rabies associated with terrestrial carnivores in Mexico. *Virus. Res*. 2005. N. 111. P. 13–27.
22. Wandeler A. I. The rabies situation in Western Europe. Towards the Elimination of Rabies in Eurasia. *Dev Biol. Basel. Karger*. 2008. V.131. P. 19–25.
23. Wu X., Franka R., Velasco-Villa A., Rupprecht C. E. Are all lyssavirus genes equal for phylogenetic analyses? *Virus Res*. 2007. N. 129 (2). P. 91–103.

Gauta 2008 07 23

Priimta publikuoti 2008 11 17