

А.С.Волынкина, А.Н.Куличенко

### ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ НА ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В 2011 г.

*ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь*

Представлены результаты генотипирования вируса ККГЛ, выявленного в клиническом материале от больных КГЛ из Ставропольского края, Ростовской и Астраханской областей в 2011 г. Определены нуклеотидные последовательности фрагментов 115–652 и 984–1469 S-сегмента и фрагмента 4620–5075 М-сегмента генома вируса для 28 образцов. Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей показал, что в 2011 г. в исследуемых регионах циркулировали типичные для данной местности штаммы, заноса новых генетических вариантов вируса не наблюдалось. Впервые в клиническом материале от больного КГЛ выявлен и охарактеризован по фрагментам S- и М-сегментов генома вариант вируса ККГЛ, относящийся к подгруппе «Астрахань-2».

*Ключевые слова:* вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, генетическое типирование, секвенирование, филогенетический анализ.

A.S.Volynkina, A.N.Kulichenko

### Genetic Monitoring of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in the South of the European Part of Russia

*Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol*

Presented are the results of gene-typing of CCHF virus detected in clinical samples from CHF patients from the Stavropol, Rostov and Astrakhan Regions in 2011. For 28 samples determined are nucleotide sequences of the fragments 115–652 (S segment) and fragments 984–1469 (M segment). Phylogenetic analysis of these nucleotide sequences demonstrated that typical strains circulated in 2011 in the regions under surveillance, importation of the new genetic variants of the virus did not take place. CCHF virus variant affiliated to the subgroup “Astrakhan-2” was detected in the clinical samples for the first time and characterized for its genome S- and M-segment fragments.

*Key word:* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, gene-typing, sequencing, phylogenetic analysis.

Крымская геморрагическая лихорадка – эндемичное заболевание для юга европейской части России, которое в последние годы по эпидемическим проявлениям является одной из наиболее актуальных для данного региона инфекцией. В период с 1999 по 2011 год в субъектах ЮФО и СКФО выявлен 1501 случай заболевания КГЛ, 68 из них (4,5 %) закончились летально. В 2011 г. было зарегистрировано 99 случаев заболевания с пятью летальными исходами [1]. Ситуация по КГЛ на юге России остается напряженной, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения не только эпидемиологических и эпизоотологических аспектов КГЛ, но и генетических особенностей вируса.

Геном вируса ККГЛ представлен одноцепочечной РНК отрицательной полярности, состоит из 3 сегментов: малого (S) – 1670 п.о., среднего (M) – 5360 п.о. и большого (L) – 12160 п.о., кодирующих соответственно нуклеокапсидный белок (N), оболочечные гликопротеины (G1, G2) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp) [5, 6].

В настоящее время, на основании частичных и полных нуклеотидных последовательностей S- и

L-сегментов генома вируса ККГЛ выделяют 7 генотипов вируса, имеющих корреляцию с географическим местом выделения: генотип I или «Африка-1», II или «Африка-2», III или «Африка-3», IVa или «Азия-1», IVb или «Азия-2», V или «Европа-1», VI или «Европа-2» [6]. Большинство случаев заболевания КГЛ в России, Турции и на Балканском полуострове вызваны вирусом с генотипом «Европа-1», в пределах которого можно выделить несколько топовариантов: подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь», «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», а также максимально генетически удаленные от прочих «Балканскую» подгруппу и «Астрахань-2» [3].

Анализ частичных и полных последовательностей М-сегмента, позволяет выделить 5 генетических групп: М-1, М-2, М-3, М-4 и М-5 [6]. Все южнороссийские изоляты вируса входят в группу М-4, образуя 2 кластера, разделяющихся по географическому принципу: «Волгоград-Ростов-Ставрополь» и «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» [8]. В результате миграции возбудителя с инфицированными домашними животными или в клещах, питающихся на перелетных птицах, возможен занос новых генова-

риантов, приводящий к нарушению генетической однородности популяции и географической привязки генотипов вируса ККГЛ [7].

Целью настоящей работы явилась генетическая характеристика вариантов вируса ККГЛ, выявленного в клиническом материале от больных из Ставропольского края, Ростовской и Астраханской областей в 2011 г., оценка состояния популяции вируса ККГЛ, циркулирующего на юге европейской части России, определение преобладающих геновариантов вируса.

### Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы сывороток крови больных КГЛ с достаточной вирусной нагрузкой, собранных в эпидсезон 2011 г. (15 образцов из Ставропольского края, 11 – из Ростовской и 2 – из Астраханской области). Исследуемые образцы доставлены из 11 административных районов Ставропольского края (Нефтекумского, Ипатовского, Апанасенковского, Андроповского, Новоалександровского, Степновского, Благодарненского, Шпаковского, Туркменского, Труновского, Буденновского), из 5 районов Ростовской области (Волгодонского, Егорлыкского, Песчанокопского, Сальского, Мартыновского) и 2 районов Астраханской области (Приволжского и Камызякского). Заражение всех больных произошло вследствие укуса клеща при выполнении сельскохозяйственных работ по месту жительства, выездов в другие регионы не было. Заболевание протекало в среднетяжелой (25 случаев) и тяжелой форме (3 случая, из них 1 летальный), преимущественно без геморрагических проявлений (19 случаев).

Экстракцию РНК из клинических образцов осуществляли с помощью набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Получение комплементарной ДНК производили при помощи набора реагентов «РЕВЕРТА-L-100» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва).

Генетическое типирование изолятов РНК осуществляли методом прямого секвенирования 3 участков генома вируса: фрагментов 115-652 и 984-1469 кодирующей области малого (S) сегмента генома длиной 538 п.о. и 486 п.о., и фрагмента 4620-5075 кодирующей области среднего (M) сегмента генома вируса ККГЛ длиной 435 п.о. с последующим проведением филогенетического анализа (позиции фрагментов приводятся по полноразмерным последовательностям S- и M-сегментов генома штамма ROS/HUVLV-100, GenBank: DQ206447, DQ206448). Адекватность использования участка 4620-5075 кодирующей области M-сегмента генома вируса ККГЛ для выявления генетических групп была доказана ранее. Фрагменты 115-652 и 984-1469 S-сегмента представляют собой более протяженные участки, включающие в себя соответственно FR и PS области S-сегмента генома вируса ККГЛ, используемые ра-

нее для генетической характеристики штаммов вируса КГЛ [4, 8]. Филогенетические деревья, построенные по участкам 115-652 и 984-1469 кодирующей области малого (S) сегмента генома вируса ККГЛ и полноразмерному S-сегменту идентично отражают филогенетические взаимоотношения между штаммами, т.е. исследуемые участки являются конгруэнтными полноразмерному S-сегменту, что доказывает возможность их использования для генетического типирования вируса ККГЛ.

Для получения специфических ампликонов использовали 3 пары праймеров с авторскими модификациями состава реакционной смеси и режима амплификации: 24 (M-4621f): cagccatgcccaaac(t/c)tc и 25 (M-5076r): ct(a/g)tcagcta(a/g)ctttcacc(a/g)tcaag, S-100f: gatgagatgaacaagtgtgttga и S-680r: tgcctttgacaaattccctgcacca, S-960f: gcacagattgacacc(c/g)ctttcagct и S-1490r: cactgggtggcattgcccttga, разработанные Л.С.Карань (ФБУН ЦНИИЭ, Москва).

Очистку ПЦР продуктов проводили с помощью набора реагентов АхуPrep™ PCR Cleanup Kit (Ахуgen Biosciences, США). Расшифровку нуклеотидных последовательностей полученных ПЦР продуктов проводили на автоматическом секвенаторе «ABI-Prism DNA Sequencer 3500» (Applied Biosystems, США) с набором реагентов «ABI Prism Big Dye Terminator Kit v.3.1.», амплифицированная ДНК была секвенирована по обеим цепям.

Нуклеотидные последовательности фрагментов генома вируса ККГЛ, полученные в данной работе, сравнивали с имеющимися последовательностями штаммов вируса, полученными из базы данных GenBank. Для сравнения использовали полноразмерные и частичные последовательности M- и S-сегментов штаммов STV/HU29223, ROS/TI28044, ROS/HUVLV-100, VLG/TI29414, Kasmanov, 9553/2001, Kosovo-Hoti, Turkey-Kelkit-06, Turkey 200310849, V42/81, AP92, Congo 3010, Semunya, ArD8194, ArD15786, HY-13, 7001, 79121, Matin, Iran-52, IbAr 10200, SPU415/85, SPU 4/81, Sudan AB1 2009 (GenBank: AF481802, AY277672, DQ206447, DQ211644, AF428144, DQ133507, GQ337053, DQ211649, GU477489, DQ211638, DQ144418, DQ076413, DQ211639, DQ211640, CHU88413, AF415236, AF358784, AF527810, DQ446212, CHU88410, DQ211648, DQ076416, HQ378179, AF489586, DQ206448, AY179961, DQ211631, AY675511, EU037902, GQ337054, DQ211636, DQ211627, GU477490, DQ211625, DQ019222, DQ094832, DQ211626, AY900145, AB069670, AB069673, AF467769, DQ446215, AF467768, DQ211635, HQ378187).

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы Vector NTI Suite 8.0. Анализ уровня генетического родства и построение филогенетических деревьев проводили в программе Mega 5.05 с использованием метода Neighbor joining, по алгоритму Kimura-2, статистическую достоверность

топологии филогенетических деревьев проверяли с помощью Bootstrap анализа, вычисления проводили для 1000 итераций.

### Результаты и обсуждение

Проведено генетическое типирование 28 образцов вируса ККГЛ, выявленного в клиническом материале от больных КГЛ. Определена нуклеотидная последовательность 84 фрагментов генома вариантов вируса ККГЛ. Анализ секвенограмм показал, что случаев микст-инфицирования больных разными штаммами вируса ККГЛ не происходило.

Полученные фрагменты использовали для проведения филогенетического анализа. Для определения кластерной позиции изучаемых образцов нами построено 3 филогенетических дерева, по 3 исследуемым участкам генома. Деревья, построенные по участкам S-сегмента идентичны по характеру ветвления, в работе приведено лишь одно из них.

На филогенетических деревьях, построенных по участкам S-сегмента, все изучаемые образцы вошли в группу «Европа-1» (V) (рис. 1), на филогенетическом дереве, построенном по участку M-сегмента, – в группу M-4 (рис. 2), это позволяет сделать вывод о том, что в эпидсезон 2011 г. на юге европейской части России циркулировали штаммы, характерные для данной территории. Заноса новых генетических вариантов из других географических областей не происходило.

Как видно из рис. 1 и 2, в группе российских штаммов наблюдается деление на 3 подгруппы. Подгруппа «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» включила в себя 13 образцов из Ставропольского края, 5 – из Ростовской области и 1 – из Астраханской области, кластеризующихся со штаммом STV/HU29223, являющимся типичным представителем данной подгруппы.

В подгруппу «Волгоград-Ростов-Ставрополь» вошли 6 образцов из Ростовской области, класте-

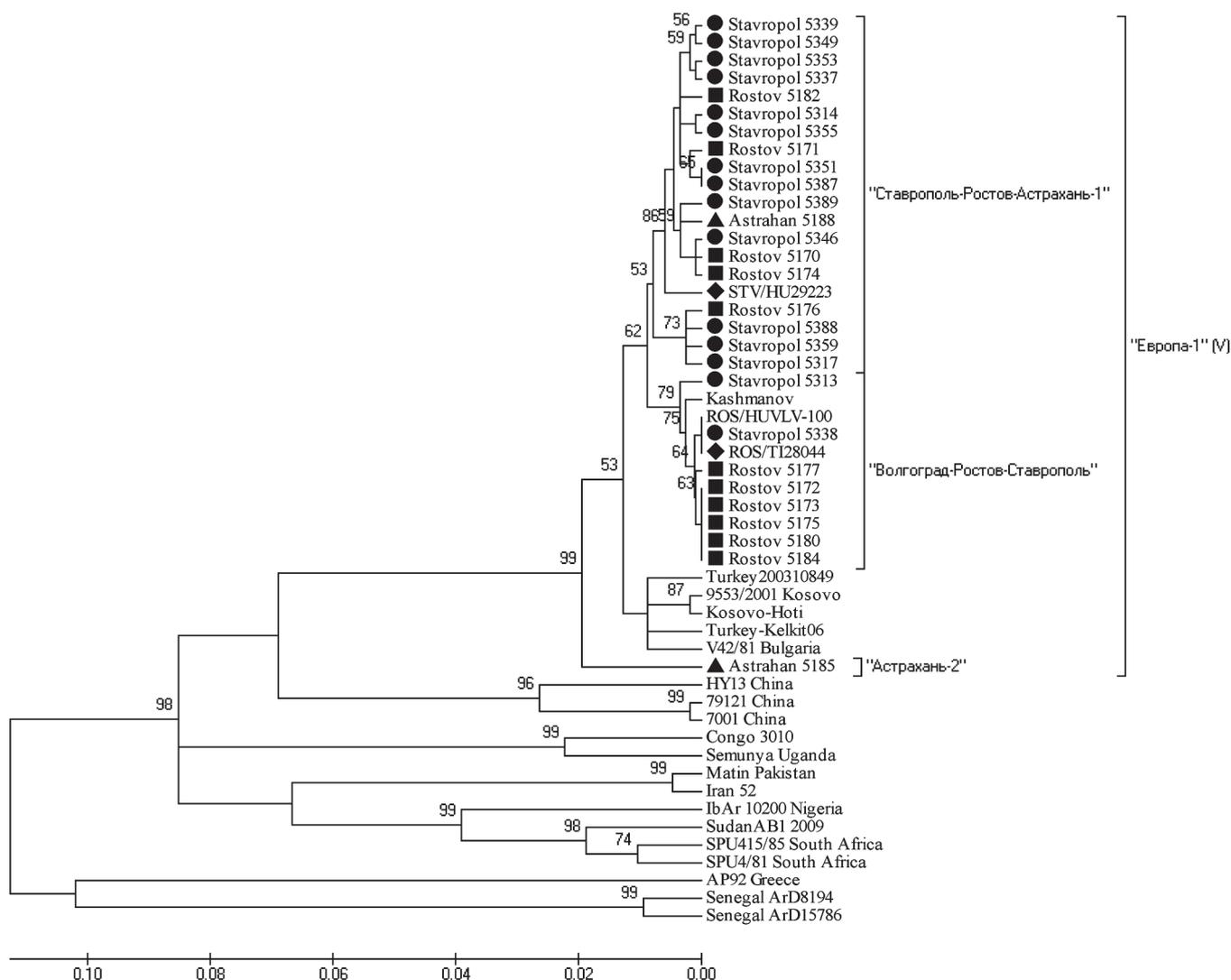


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное по участку 115-652 кодирующей области малого (S) сегмента генома вируса ККГЛ длиной 538 п.о. (Neighbor joining, Kimura-2), указаны индексы поддержки со значением >50:

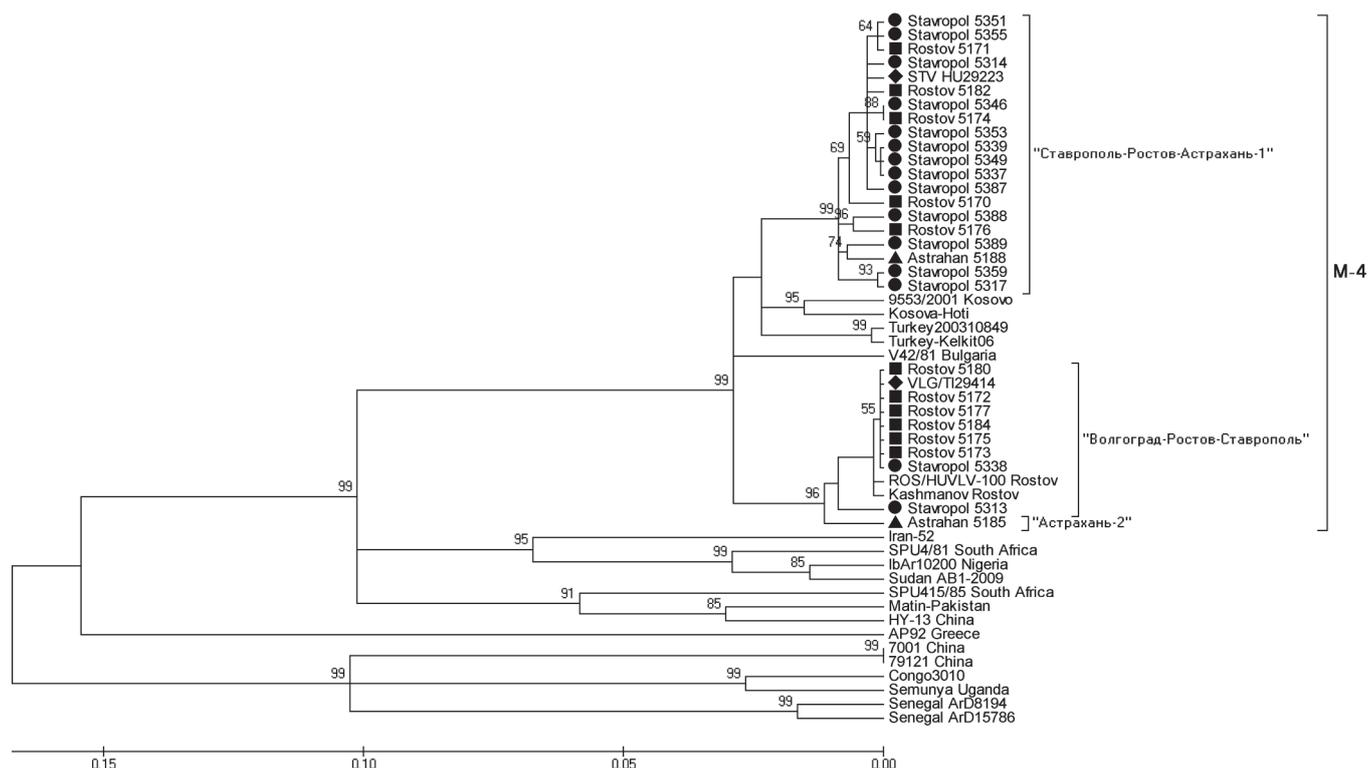


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное по участку 4620-5075 кодирующей области среднего (М) сегмента генома вируса ККГЛ длиной 538 п.о. (Neighbour joining, Kimura-2), указаны индексы поддержки со значением >50:

◆ – типовые представители генетических подгрупп; ● – образцы из Ставропольского края; ■ – из Ростовской области; ▲ – из Астраханской области

ризующихся со штаммом ROS/TI28044 – типовым представителем этой подгруппы, а также 2 – из Ставропольского края.

Подгруппу «Астрахань-2» образовал вариант из Астраханской области – «Астрахань-5185», формирующий отдельную ветвь в группе «Европа-1». На филогенетических деревьях, построенных по участкам S-сегмента, эта ветвь наиболее далеко удалена от всех представителей «Европа-1», включая и штаммы из Турции и Болгарии, однако анализ, проведенный по участку М-сегмента, показал, что астраханский образец также выделяется в отдельную ветвь, но не выходит из группы российских штаммов. По нуклеотидной последовательности фрагмента М-сегмента он наиболее генетически близок к представителям подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь», что приводит к несоответствию филогений и не исключает наличия реассортации по М-сегменту. Для детальной характеристики данного образца необходи-

ма расшифровка полной нуклеотидной последовательности генома вируса.

Ранее варианты вируса ККГЛ, относящиеся к данной подгруппе, были выделены из клещей, собранных в Астраханской области, и охарактеризованы по участку гена нуклеопротеина длиной 223 п.о. [3]. Из клинического материала от больного КГЛ образец, входящий в подгруппу «Астрахань-2», выделен впервые. Для более подробной его характеристики было проведено сравнение по нуклеотидной и предсказанной аминокислотной последовательности со всеми анализируемыми образцами и выбранными для филогенетического анализа штаммами из банка данных GenBank на исследуемых участках (табл. 1, 2).

Образец «Астрахань-5185» на участках S-сегмента в пределах генотипа «Европа-1» имеет сходный процент различий нуклеотидной и аминокислотной последовательностей как с представителя-

Таблица 1

Различия нуклеотидной / аминокислотной последовательности (%) по фрагментам S-сегмента

Генотип Участок генома	Европа-1 (V)			Европа-2 (VI)	Азия-1 (IVa)	Азия-2 (IVb)	Африка-1 (I)	Африка-2 (II)	Африка-3 (III)
	Подгруппа «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1»	Подгруппа «Волгоград-Ростов-Ставрополь»	«Балканская подгруппа»						
S 115-652	3,3–4,1/ 1,7–2,8	3,3–3,9/ 2,2–2,8	3,7–4,8/ 2,2–3,3	20,1/ 11,2	14,1–14,3/ 6,7	11,7–13,0/ 6,7–8,4	18,2–18,4/ 6,7–7,3	15,4–15,6/ 6,2	15,8–16,8/ 6,2–6,7
S 984-1469	2,9–4,5/ 0,6–1,9	2,9–3,7/ 0–0,6	3,1–4,3/ 0–1,9	15,4/ 3,7	9,7–11,0/ 3,1–3,7	8,6–10,3/ 1,9–3,1	14,4/ 2,5	12,1–13,0/ 2,5	13,2–14,4/ 2,5–3,1

Различия нуклеотидной / аминокислотной последовательности (%) по фрагменту М-сегмента

Генотип Участок генома	М-4			М-1	М-2	М-3	М-5
	Подгруппа «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1»	Подгруппа «Волгоград-Ростов-Ставрополь»	«Балканская подгруппа»				
М 4620-5075	5,8–7,4/ 4,8–6,9	1,8–3,2/ 1,4–2,8	4,1–6,2/ 3,5–8,3	15,9–17,5/ 10,3–13,1	16,3–18,9/ 9,7–13,1	25,1/ 22,8	24,1–27,4/ 21,4–23,5

ми подгрупп «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» и «Волгоград-Ростов-Ставрополь», так и со штаммами «Балканской» подгруппы. На участке М 4620-5075 образец «Астрахань-5185» имеет наибольший процент различий нуклеотидной последовательности с представителями подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», наименьший – с образцами подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь». По аминокислотной последовательности в пределах генотипа исследуемый образец наиболее отличается от штаммов «Балканской» подгруппы, наименьший процент отличий – с образцами подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь».

С представителями других генотипов различия по фрагментам S 115-652, S 984-1469 и М 4620-5075 составляют соответственно 11,7–20,1, 8,6–15,4 и 15,9–27,4 % по нуклеотидной последовательности, 6,2–11,2, 1,9–3,7 и 9,7–23,5 % по аминокислотной.

В пределах генетических подгрупп «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» и «Волгоград-Ростов-Ставрополь» процент различий нуклеотидной последовательности фрагментов S 115-652, S 984-1469 и М 4620-5075 представителей подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» не превышает соответственно 2,4, 2,7 и 3,2 %, среди представителей подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь» – 0,9, 1,4 и 2,1 %. Аминокислотные последовательности на этих же участках в пределах подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» максимально различаются на 1,1, 1,2 и 3,5 %, у штаммов подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь» – на 1,1, 0,6 и 2,2 %.

Анализ различий нуклеотидной и аминокислотной последовательностей подтверждает выделение образца «Астрахань-5185» по участкам S-сегмента в отдельную генетическую подгруппу в пределах генотипа «Европа-1», по фрагменту М-сегмента образец близок к представителям подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь».

Проведенный филогенетический анализ позволил установить корреляцию (статистически не значимую, в связи с малым числом выборки) между принадлежностью штамма к генетическим подгруппам, тяжестью течения заболевания и наличием геморрагических проявлений. Все случаи заболевания с тяжелым течением, из исследованных нами в 2011 г., вызваны представителями подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», один из них закончился летально. Внутрибольничная вспышка КГЛ в мае 2011 г. в Ростовской области также была вызвана

штаммом этой подгруппы [2]. Штаммы подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь» вызывали заболевание средней тяжести, геморрагические проявления наблюдались в 2 случаях из 8 (25 %). Представители подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» вызывали геморрагические проявления в 31,6 % случаев (6 случаев из 19).

Таким образом, образцы из Ставропольского края вошли в 2 подгруппы: «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» (13 образцов) и «Волгоград-Ростов-Ставрополь» (2 образца). Варианты вируса, циркулирующие в Ростовской области, относились к подгруппе «Волгоград-Ростов-Ставрополь» (6 образцов) и к подгруппе «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» (5 образцов). Один образец из Астраханской области образовал подгруппу «Астрахань-2», другой – вошел в подгруппу «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1».

Анализ территориального распространения геновариантов вируса ККГЛ на юге России показал, что наблюдается перекрытие ареалов циркуляции генетических вариантов вируса. Представители подгруппы «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» имеют наиболее широкий ареал распространения и циркулируют на территории Ставропольского края, Астраханской области, а также в южной и юго-восточной части Ростовской области. Для территории Ставропольского края данный геновариант является преобладающим. Штаммы вируса подгруппы «Волгоград-Ростов-Ставрополь» встречаются преимущественно в Ростовской области, а также в северных и восточных районах Ставропольского края. Таким образом, на территории Ростовской области одновременно циркулируют и, приблизительно с равной частотой, встречаются геноварианты «Волгоград-Ростов-Ставрополь» и «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1». Изоляты вируса ККГЛ, относящиеся к геноварианту «Астрахань-2», в настоящее время известны только для Астраханской области (Приволжский район), что свидетельствует о существовании на данной территории локального очага вируса ККГЛ, штаммы которого генетически отличаются от представителей основной популяции вируса.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что в эпидсезон 2011 г. на территории Ставропольского края, Ростовской и Астраханской областей циркулировали штаммы вируса ККГЛ, типичные для данной территории, случаев заноса новых генетических вариантов вируса не наблюдалось.

В настоящее время популяция вируса ККГЛ, циркулирующего на юге России, остается стабильной, однако необходимы дальнейшие исследования, в частности, генетическая характеристика штаммов вируса из Республики Калмыкия и Дагестан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко Н.Ф., Смоленский В.Ю., Волюнкина А.С., Варфоломеева Н.Г., Заикина И.Н., Малецкая О.В. и др. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2011 г. Пробл. особо опасных инф. 2012; 1(111):22–5.
2. Волюнкина А.С., Карань Л.С., Василенко Н.Ф., Варфоломеева Н.Г. Генетическая идентификация вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, вызвавшего внутрибольничное заражение. Инфекция и иммунитет. 2012; 2(1–2):475–6.
3. Карань Л.С., Платонов А.Е., Смирнова С.Е., Вышемирский О.И., Журавлев В.И. и др. Генетические исследования при КГЛ: от диагностики до молекулярной эпидемиологии. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Гриф и К; 2007. С. 57–61.
4. Яшина Л.Н., Петров В.С., Вышемирский О.И., Аристова В.А., Москвина Т.М., Львов Д.К. Характеристика вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующего в России и республиках Средней Азии. Вopr. вирусол. 2002; 47(3):11–5.
5. Flick R. Molecular biology of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. In: Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective. Springer; 2007. P. 35–44.
6. Hewson R. Molecular epidemiology, genomics, and phylogeny of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. In: Crimean-Congo hemorrhagic fever: a global perspective. Springer; 2007. P. 45–55.
7. Mild M., Simon M., Albert J., Mirazimi A. Towards an

understanding of the migration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. J. Gen. Virol. 2010; 91:199–207.

8. Yashina L., Vyshemirskii O., Seregin S., Petrova I., Samokhvalov E., Lvov D. et al. Genetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Russia. J. Clin. Microbiol. 2003; 41(2):860–2.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Vasilenko N.F., Smolensky V.Yu., Volynkina A.S., Varfolomeeva N.G., Zaikina I.N., Maletskaya O.V. et al. [Peculiar aspects of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2011]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2012; (111):22–5.
2. Volynkina A.S., Karan' L.S., Vasilenko N.F., Varfolomeeva N.G. [Genetic identification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus that has caused hospital infection]. Infektsiya Immunitet. 2012; 2(1–2):475–6.
3. Karan' L.S., Platonov A.E., Smirnova S.E., Vyshemirsky O.I., Zhuravlev V.I. et al. [Genetic investigations at CHF: from diagnostics to molecular epidemiology]. In: [Arboviruses and Arboviral Infections]. M.: Grif i Co; 2007. P. 57–61.
4. Yashina L.N., Petrov V.S., Vyshemirsky O.I., Aristova V.A., Moskvina T.M., L'vov D.K. [Characterization of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus circulating in Russia and Central Asia republics]. Vopr. virusol. 2002; 47(3):11–5.

Authors:

Volynkina A.S., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russia. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Волюнкина А.С., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 11.10.12.