DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60
УДК 616.988.25-022.935.4 (574-20:574.52)

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ВИРУСА КРЫМ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.И. НУРМАХАНОВ[1], Е.Б. САНСЫЗБАЕВ[1], О.У. ЕСХОДЖАЕВ[1], А.Н. ВИЛКОВА[1], Р. САЙЛАУБЕКУЛЫ[2], М.В. КУЛЕМИН[2], Л.М. АТОВУЛАЕВА[2], Д.К. КАМАЛОВА[3], А.Б. ШЕВЦОВ[3]

[1]Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, г. Алматы, Республика Казахстан,
[2]Шымкентская ПЧС, г. Шымкент, Республика Казахстан,
[3]Национальный центр биотехнологии, г. Астана, Республика Казахстан

Ежегодная регистрация случаев Крым-Конго геморрагической лихорадки на фоне отсутствия специфических средств профилактики и лечения заболевания делают изучение природных популяций вируса актуальным в плане получения новых данных о генетическом разнообразии вирусов Крым-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих на юге Казахстана. Получение данных последовательностей участков *S, L* и *M* сегментов генома вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки от клещей послужат в дальнейшим основой для разработок отечественных диагностических препаратов и вакцин.

Цель исследования. Получение нуклеотидных последовательностей участков *S, L* и *M* сегментов генома вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки от клещей и сравнение их с опубликованными данными из базы данных GenBank для установления филогенетических взаимоотношений между штаммами вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки из Южно-Казахстанской области и штаммами вирусов, циркулирующих в различных регионах мира.

Материал и методы. Клещи отлавливались как в открытых стациях методом «на флаг», так и снимались с сельскохозяйственных животных. Измельчение проводили в гомогенизаторе «Mini-Bead Beater» с добавлением 700 мкл питательной среды Игла МЕМ. Вирусную РНК из пулов клещей выделяли с использованием коммерческого набора «QIAGEN» (Германия), к-ДНК получали с использованием набора «Реверта L» (Россия) согласно инструкциям производителей. Детекцию возбудителя Крым-Конго геморрагической лихорадки в пробах от клещей проводили методом количественной ПЦР (qPCR). Выделение *S, L* и *M* сегментов проводили методом двухраундовой ПЦР с внешними и внутренними наборами праймеров. Построение дендрограмм проводили с использованием программного обеспечения Mega 5.0, выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили, используя алгоритм Muscle, построение филогенетических деревьев проводили с использованием «метода ближайших соседей».

Результаты и обсуждение. Получены данные секвенирования участков *S, L* и *M* сегментов генома вируса Крым-Конго геморрагической, лихорадки, выделенного от клещей из Южно-Казахстанской области. Амплифицированы и секвенированы фрагменты *S* сегментов вируса протяженностью 471-510 п.н., *L* сегментов протяженностью 548-623 п.н. и *M* сегментов протяженностью 793 п.н. Нуклеотидные последовательности выделенных сегментов вируса ККГЛ были депонированы в международный банк данных Gene bank NCBI.

Выводы. Проведенные исследования впервые в Казахстане показали генетическое разнообразие циркулирующих в Южно-Казахстанской области вирусов Крым-Конго геморрагической лихорадки. Филогенетический анализ и сравнения последовательностей выделенных участков генома с базой данных GenBank позволили сделать заключение, что на территории Казахстана циркулируют генетические варианты вируса генотипов *Азия 1* и *Азия 2*.

Ключевые слова: Крым-Конго геморрагическая лихорадка, секвенирование, филогенетический анализ.

Контакты: Нурмаханов Талгат Ибраевич, магистр, заведующий лабораторией Природно-очаговых вирусных инфекций Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Капальская 14, индекс 050054. E-mail: nti72@mail.ru

Contacts: Talgat I Nurmakhanov, Master Head of laboratory Natural focal viral infections M. Aykimbaev's Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Diseases, Almaty c., Kapalskaya str. 14, index 050054. E-mail: nti72@mail.ru

Поступила 27.08.2018

Для цитирования: Нурмаханов Т.И., Сансызбаев Е.Б., Есходжаев О.У., Вилкова А.Н., Сайлаубекулы Р., Кулемин М.В., Атовулаева Л.М., Камалова Д.К., Шевцов А.Б. Генетические варианты вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующие на территории Южно-Казахстанской области // Медицина (Алматы). – 2018. - №9 (195). – С. 54-60

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

ОҢТҮСТІК-ҚАЗАҚСТАН ОБЛЫСЫ АУМАҒЫНЫҢ АЙНАЛЫМЫНДАҒЫ ҚЫРЫМ-КОНГО ГЕМОРРАГИЯЛЫҚ ҚЫЗБА ВИРУСЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ВАРИАНТТАРЫ

Т.И. НҰРМАХАНОВ[1], Е.Б. САНСЫЗБАЕВ[1], О.У. ЕСХОДЖАЕВ[1], А.Н. ВИЛКОВА[1], Р. САЙЛАУБЕКҰЛЫ[2], М.В. КУЛЕМИН[2], Л.М. АТОВУЛАЕВА[2], Д.К. КАМАЛОВА[3], А.Б. ШЕВЦОВ[3]

[1]М. Айқымбаев атындағы Қазақ карантиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы,
[2]Шымкент обаға қарсы күрес станциясы, Шымкент қ., Қазақстан Республикасы,
[3]Ұлттық биотехнология орталығы, Астана қ., Қазақстан Республикасы

Жылда тіркелетін Қырым-Конго геморрагиялық қызба жағдайлары аурудың арнайы профилактикалық және емдеу жолдарының жоқтығынан Қазақстанның оңтүстігінде айналымдағы ҚКГҚ вирусының генетикалық түрлері жайлы жаңа мәліметтер алуда, вирустың табиғи популяциясын зерттеуде өзекті болып табылады. Кенелерден Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусының геномының *S, L* және *M* сегменттері учаскелерінің тізілімділігіне мәліметтер алу келешекте отандық диагностикалық препараттар және вакцина өндіруге негіз болады.

Зерттеудің мақсаты, кенелерден ҚКГҚ вирусының геномының *S, L* және M сегменттері учаскелерінің нуклеотидті тізілімділігін алу және Оңтүстік-Қазақстан облысының Кенелерден Қырым-Конго геморрагиялық қызбасының штамдары мен әлемнің түрлі аймақтарындағы айналымдағы штамдармен филогенетикалық қатынастарды анықтау үшін GenBank базасының жарияланған ақпараттарымен салыстыру.

Материал және әдістері. Кенелер ашық жерлерден жалаушалармен және ауылшаруашылық жануарлардан жиналды. Ұсақтауды «Mini-Bead Beater» гомогенезаторында 700 мкл қоректік ортасын қосу арқылы жүргіздік. Вирустық РНҚ-ны кене пулдарынан «QIAGEN» коммерциялық жинағы арқылы бөліп алдық, к-ДНҚ-ны «Реверта L» жинағымен өндірушінің нұсқауына сәйкес алдық. Қырым-Конго геморрагиялық қызбасының қоздырғышын кенелердің сынамаларынан сандық ПТР (qPCR) әдісімен анықтадық. *S, L* және *M* сегменттерін екі раундық ПТР әдісімен және ішкі праймерлер жиынтығымен бөліп алдық. Дендограмманы Mega 5.0 бағдарламалық қамтамасыз ету арқылы құрадық, нуклеотидтік тізімділікті Muscle алгоритмін пайдалану арқылы, филогенетикалық ағаштардың құрылысы «жақын көрші әдісі» арқылы жүргіздік.

Нәтижелері және талқылауы. Оңтүстік-Қазақстан облысының кенелерінен бөлініп алынған Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусының геномының S, L және M сегменттері учаскелерінің секвенирлеудің мәліметтері алынды. Вирустың S сегментінің 471-510 қ.н. ұзындықтағы фрагменттері, L сегментінің 548-623 қ.н. ұзындықтағы фрагменттері және M сегментінің 793 қ.н.ұзындықтағы фрагменттері амплификацияланды және секвенирленді. Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирусының бөлініп алынған сегменттерінің нуклеотидтік тізілімділігі халықаралық GenBank NCBI мәліметтер базасында депонирленді.

Қорытынды. Жүргізілген зерттеулер Қазақстанда алғаш рет Оңтүстік-Қазақстан облысының айналымдағы Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы вирустарының генетикалық әртүрлілігін көрсетті. Бөлініп алынған геномның учаскелерін филогенетикалық талдау және тізілімділігін GenBank базасының ақпаратымен салыстыру вирустың Азия 1 және Азия 2 генотиптерінің генетикалық варианттарының Қазақстан аумағында айналымда бар екеніне қорытынды жасауға мүмкіндік берді.

Негізгі сөздер: Қырым-Конго геморрагиялық қызбасы, секвенирлеу, филогенетикалық талдау.

SUMMARY

GENETIC VARIANTS OF THE CRIMEAN-CONGO VIRUS OF HEMORRHAGIC FEVER CIRCULATING IN THE TERRITORY OF THE SOUTH-KAZAKHSTAN REGION

TI NURMAKHANOV[1], EB SANSYZBAEV[1], OU YESKHOJAYEV[1], AN VILKOVA[1], R SAJLAUBEK-ULY[2], MV KULEMIN[2], LM ATOVULAEVA[2], DK KAMALOVA[3], AB SHEVTSOV[3]

[1]M. Aykimbaev's Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Diseases, Almaty c., Republic of Kazakhstan,

[2]Shymkent Anti-Plague Station, Shymkent c., Republic of Kazakhstan,

[3]National Center for Biotechnology, Astana c., Republic of Kazakhstan

The annual registration of cases of the Crimean-Congo hemorrhagic fever against the background of the lack of specific means for the prevention and treatment of the disease make the study of natural virus populations relevant in terms of obtaining new data on the genetic diversity of the Crimean-Congo virus hemorrhagic fever circulating in the south of Kazakhstan. Obtaining these sequences of sections S, L and M of the genome segments of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from ticks will serve as a basis for the development of domestic diagnostic preparation and vaccines.

The aim of the study was to obtain the nucleotide sequences of sections of the S, L and M segments of the Crimean Congo genome of the hemorrhagic fever virus from ticks and compare them with published data from the GenBank database to establish phylogenetic relationships between strains of the Crimean Congo hemorrhagic fever virus from the South Kazakhstan region and strains of viruses circulating in various regions of the world.

Material and methods. The ticks were caught both in open stations by the "flag" method, and were removed from farm animals. The grinding was carried out in a Mini-Bead Beater homogenizer with the addition of 700 µl of Eagle's MEM. Viral RNA from the ticks pools was isolated using a commercial "QIAGEN" (Germany) kit, c-DNA was prepared using the «Reverta L» (Russia) kit according to the manufacturers instructions. Detection of the causative agent of the Crimean-Congo hemorrhagic fever in samples from ticks was carried out by the quantitative PCR method (qPCR). Isolation of S, L and M segments was performed by two round PCR method with external and internal sets of primers. The construction of dendrograms was carried out using Mega 5.0 software, the alignment of nucleotide sequences was carried out using the Muscle algorithm, the construction of phylogenetic trees was carried out using the "nearest-neighbor method".

Results and discussion. Sequencing data of sections of the S, L and M segments of the genome of the Crimean-Congo virus of hemorrhagic fever isolated from ticks from the South Kazakhstan region were obtained. Amplified and sequenced fragments of S virus segments with a length of 471-510 bp, L segments length of 548-623 bp. and M segments with a length of 793 bp. Nucleotide sequences of the isolated segments of the CCHF virus were deposited in the international Gene Bank NCBI database.

Conclusions. The conducted studies for the first time in Kazakhstan showed the genetic diversity of hemorrhagic fever circulating in the South Kazakhstan region of the Crimean-Congo viruses. Phylogenetic analysis and comparisons of sequences of isolated genome sites with the GenBank database made it possible to conclude that genetic variants of the genotype virus Asia 1 and Asia 2 circulate in Kazakhstan.

Keywords: Crimea-Congo hemorrhagic fever, sequencing, phylogenetic analysis.

For reference: Nurmakhanov TI, Sansyzbaev EB, Yeskhojayev OU, Vilkova AN, Sajlaubekuly R, Kulemin MV, Atovulayeva LM, Kamalova DK, Shevtsov AB. Genetic variants of the Crimean-Congo virus of hemorrhagic fever circulating in the territory of the South-Kazakhstan region. *Meditsina (Almaty) = Medicine (Almaty)*. 2018;9(195): 54-60 (In Russ.). DOI: 10.31082/1728-452X-2018-195-9-54-60

Крым-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ) – зоонозная природно-очаговая арбовирусная инфекционная болезнь с преимущественно трансмиссивным механизмом передачи возбудителя. Геном вируса ККГЛ представлен тремя кольцевыми (за счет наличия комплементарных концов, связанных водородными связями) фрагментами одноцепочной РНК отрицательной полярности. Фрагменты генома вируса ККГЛ имеют размеры около 12200 (*L* сегмент), 5360 (*M* сегмент) и 1670 (*S* сегмент) нуклеотидов и кодируют транскриптазу, оболочечные гликопротеины (*Gn* и *Gc*) и нуклеокапсидный белок *N* соответственно. Нуклеотидная последовательность всего генома вируса ККГЛ пока неопределена, однако для ряда штаммов ККГЛ известны полные последовательности *M* и *S* сегментов генома [1, 2, 3, 4].

В Казахстане природные очаги этой инфекции расположены в Южно-Казахстанской (ЮКО), Кызылординской и Жамбылской областях [5]. В последнее десятилетие наибольшее количество случаев заболевания ККГЛ регистрируется на территории ЮКО [6]. Основным переносчиком этой инфекции являются иксодовые клещи, преимущественно рода *Hyalomma* [7]. Нами и другими исследователями было подтверждено наличие инфицированных вирусом ККГЛ клещей на большей территории ЮКО [8]. Широкое географическое распространение и высокая опасность заболевания ККГЛ для человека делают изучение природных популяций вируса актуальным в плане получения новых данных по генетической вариабельности циркулирующего на юге Казахстана вируса ККГЛ, изучения путей его эволюции. Проведенные в 1999 году исследования выявили различия между антигенами ККГЛ из Жамбылской области и антигенами ККГЛ из других областей (Кызылординской, Южно-Казахстанской). Было установлено, что обнаруженные антигены вируса ККГЛ у людей из Кызылординской и Южно-Казахстанской областей близки генетически к природным очагам ККГЛ Индии штатов Пондичери и Керала, а из Жамбылской области близки к антигенам вируса из провинции Sinkiang в Северном Китае [9]. Исследования клещей из Казахстана, проведенные в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского, показали циркуляцию различных генетических вариантов вируса ККГЛ, и то, что на территории Казахстана циркулируют не только «азиатские» геноварианты вируса, но и вирусы с генотипом, характерным для Южной Африки. Однако данные по строению части *S, M, L* - сегментов генома вирусов ККГЛ из Казахстана весьма ограничены и были получены только для нескольких штаммов, выделенных в конце прошлого столетия.

Целью исследования было получение нуклеотидных последовательностей участков *S, L* и *M* сегментов генома вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки от клещей и сравнение их с опубликованными данными из базы данных *GenBank* для установления филогенетических взаимоотношений между штаммами вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки из Южно-Казахстанской области и штаммами вирусов, циркулирующих в различных регионах мира.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения исследований были клещи, отловленные стандартными методами («на флаг», снятые с сельскохозяйственных животных) на территории ЮКО. Клещи были определены по видам, из которых сформированы пулы по 5 до 13 клещей одного вида. Предварительно клещей измельчали в гомогенизаторе *Mini-Bead Beater* с добавлением 700 мкл питательной среды *Игла MEM*. Полученную суспензию хранили до начала исследования при - 80°C. Для проведения секвенирования были использованы только пулы клещей, в которых методом ПЦР были выявлены РНК вируса ККГЛ.

Суммарную РНК из пулов клещей выделяли с использованием коммерческого набора *QIAGEN*, к-ДНК получали с использованием набора «*Реверта L*» (Россия) согласно инструкциям производителей. Выделение *S, L* и *M* сегментов проводили методом двухраундовой ПЦР с внешними и внутренними наборами праймеров. Учет результатов проводили в 1,5% агарозном геле.

Перед секвенированием были предварительно получены пары олигодезоксирибонуклеотидных праймеров для выявления *S, L* и *M* сегментов в образцах (табл. 1).

Таблица 1 - **Использованные в работе праймеры к вирусу ККГЛ**

Внешние олигодезоксирибонуклеотидные праймеры	
1	2
Наименование	Структура (5″– 3″)
S-rna- CCHF-F1	ACGCCCACAGTGTTCTCTTGAGTG
S-rna-CCHF-R1	CAAGGCCTGTTGCRACAAGTGCTAT
M-CCHF-Kuhn-F	CAAAGAAATACTTGCGGCACG
M-CCHF-NCB-R1	CCTYTTACACCAYTCTAGYARGCCTTC
L-CCHF-NCB-F1	CTTAMGAGGATGCTRTCTGACAA
L-CCHF-NCB-R1	TTGTTAGARCCRTATAAGAATGTTGA
Внутренние олигодезоксирибонуклеотидные праймеры	
Наименование	Структура (5″– 3″)
Burt- CCHF-F1	TGGACACCTTCACAAACTC
Burt- CCHF-R1	GACAAATTCCCTGCACCA
M-CCHF-NCB-F2	TCAGTACGTAAGTGTTAACTTTGAG
M-CCHF-NCB-R2	CCTTGAGGNAANGTCAAGATTAT
L-CCHF-NCB-F2	TGGAGAYGGTGATGTGTTTACAGC
L-CCHF-NCB-R2	GCTGCATATGYCTTTCTATYCCTGT

Постановку ПЦР осуществляли в общем объеме 30 мкл с использованием амплификатора *MasterCycler ProS* (*Eppendorf*). Реакционная смесь включала: праймеры по 10 пмол каждого, 10 *мМTris-HCl* (pH 8,8 при 25ºС), 50 *мМKCl*, 0,08% нонидет Р40, 2,5 *мМ MgCl2*, дНТФ в концентрации 200 нМ каждого, 2 единицы *Taq* полимеразы (*Fermentas*). Программа ПЦР амплификации: длительная денатурация 95ºС – 5 минут; 35 циклов 95ºС – 30 секунд, 58ºС – 30 секунд, 72ºС – 45 секунд; финальная элонгация 5 минут при 72ºС.

Очистку ПЦР продуктов проводили ферментативным методом, используя *Exonuclease I* (*Fermentas*) и щелочную фосфатазу (*Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas*). Реакцию секвенирования проводили с применением *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (*Applide Biosystems*) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730xl *DNA Analyzer* (*ApplideBiosystems*).

Нуклеотидные последовательности, полученные с применением прямого и обратного праймеров, были проанализированы и объединены в общую последовательность с помощью программного обеспечения *Seq Scape 2.6.0* (*Applied Biosystems*). В качестве матрицы использовали последовательности референтного штамма соответствующего вируса, депонированные в международной базе *NCBI*. Построение дендрограмм проводили с использованием программного обеспечения *Mega 5.0*, выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили, используя алгоритм *Muscle* [10,11], построение филогенетических деревьев проводили с использованием метода ближайших соседей (*Neiighbor-Joining NJ*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего было секвенировано 12 проб РНК, давших положительные результаты к вирусу ККГЛ. Три пробы от клещей (*H. anatolicum* – 3) из Махтаральского района, шесть проб из Сайрамского района (*H. anatolicum* – 4, *H. scupense* – 1, *H. punctata* – 1), две пробы из Тулькубасского района (*H. scupense* – 2), одна из Отрарского района (*H. punctata* – 1). Были получены данные секвенирования и геномная последовательность от образцов к *S*, *L* и *M* сегментам вируса ККГЛ. Нуклеотидные последовательности выделенных сегментов вируса ККГЛ были депонированы в *Genebank NCBI*, получены номера регистрации *S* – сегмент KX096700, KX096701, KX096702, KX096703, KX096704, KX096705, *L* – сегмент KX129730, KX129731, KX129732, KX129733, KX129734, KX129735, KX129736, KX129737, *M* – сегмент KX096706.

На основе определенных нуклеотидных последовательностей *S, L, M* – сегментов геномных РНК построено «филогенетическое дерево» (рис. 1-3)

Филогенетический анализ объединил последовательности *S* сегментов в две группы, относящиеся к Азии-1 со штаммами Центральной - Юго-Восточной Азии и Азии-2 со штаммами из Ближнем Востока, Афганистана и Пакистана. Широкое разнообразие генотипов *S* сегментов, возможно, связано с историческим бытом народов Казахстана, которые на протяжении тысячелетий занимались кочевым скотоводством, ведя торговые отношения с соседствующими странами, немаловажную роль играет наличие миграционных путей перелетных птиц, некоторые из них проходят через территорию ЮКО, эти данные напрямую подтверждают тезис о возможности переноса вируса ККГЛ с континента на континент. Филогения по *L* и *M* сегментам кластеризовала последовательности в две группы III и IV со штаммами из Ближнего Востока и Азии, показывая высокое генетическое разнообразие штаммов ККГЛ, циркулирующих в Казахстане.

Рисунок 1 - Филогенетическое дерево, построенное по *S*-сегменту генома вируса ККГЛ

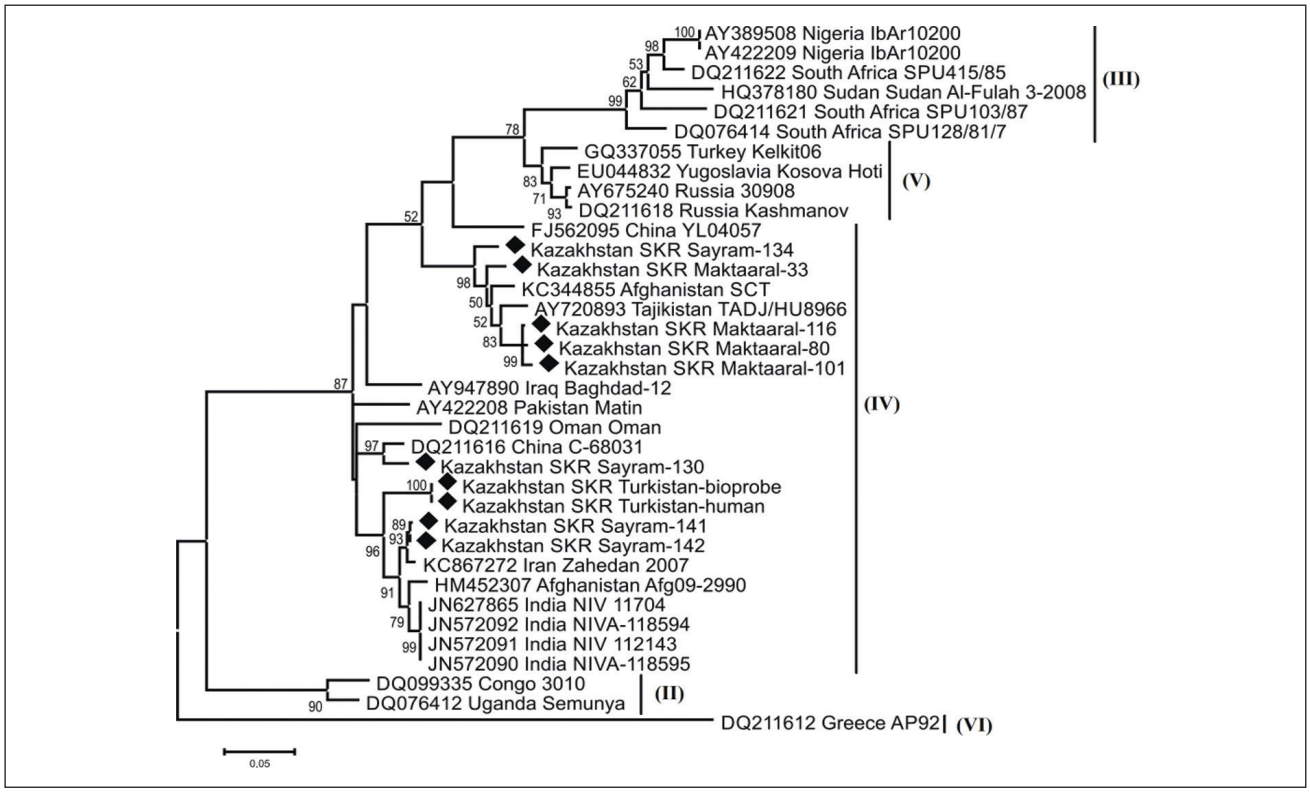

Рисунок 2 - Филогенетическое дерево, построенное по *L*-сегменту генома вируса ККГЛ

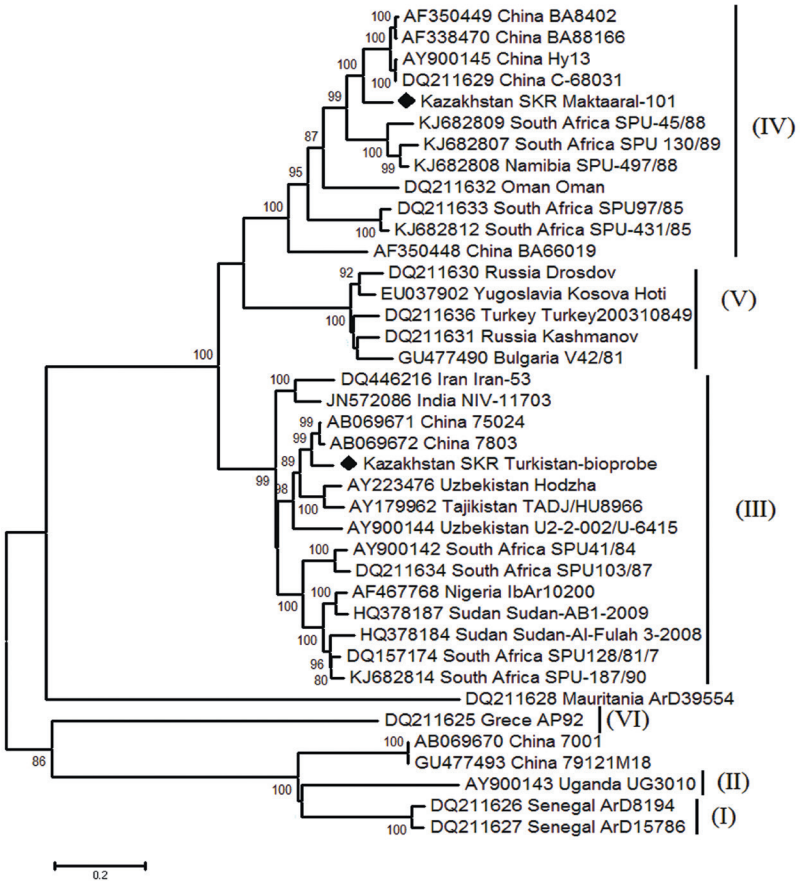

Рисунок 3 - Филогенетическое дерево, построенное по *M*-сегменту генома вируса ККГЛ

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования впервые в Казахстане показали генетическое разнообразие циркулирующих в Южно-Казахстанской области вирусов ККГЛ. Полученные результаты будут использованы в разработке отечественных диагностических тест-систем, в производстве вакцин, а также позволят скорректировать программы контроля и профилактики ККГЛ.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Benjiang M.A., Changshou H., Papa A. et al. Sequencing and comparative analysis of the complete glycoprotein gene of three Crimean – Congo hemorrhagic fever virus Chinese isolates // Chinese J. Exp. Clin. Virol. – 2001. – Vol. 15. – P. 105-111

2 Mariott A.C., Nuttall P.A. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean – Congo hemorrhagic fever, Hazara and Dugbe viruses // Virology. – 1992. – Vol. 109. – P. 795-799

3 Rodriguez L., Maupin G.O., Ksiazek T.G. et al. Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean – Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 1997. – Vol. 57. – P. 512-518

4 Hewson R. et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: sequence analysis of the small RNA segments from a collection of virusesworld wide // VirusRes. – 2004. – Vol. 102. – P. 185-189

5 Temirbekov J.T., Kiryushchenko T., Durumbetov E.E. et al. New outbreak of Crimean hemorrhagic fever in the area Moyinkum Jambul Region.: Boundary particular infectious disease epidemiology in Kazakhstan. In Sat. – Alma-Ata, 1984. – P. 122-125

6 Sansyzbayev Y., Nurmakhanov T., Derjabin P., Atshabar B., Kazakov S., Vilkova A., Aymukhametova A.. Hewson R., Hay J., Ayazbayev T., Andrushchenko A., Ramazanova S. Identification of ticks infected with Congo-Crimean hemorrhagic fever (CCHF) in endemic and non-endemic areas of Kazakhstan: The 2014 ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting is January 27-29. In Sat. – Washington, 2014

7 Сержан О.С., Байтанаев А.О., Матаков М.И., Нурмаханов Т.И., Сержан М.О., Пономарева В.А., Нуриев Х.Х., Турмагамбетова С.У., Классовская Е.В., Мадимова Н.И., Бурцева В.Н. Эколого-фаунистический анализ видового состава клещей Hyalomma и их роль в природной очаговости Конго-Крымской геморрагической лихорадки // Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане. – 2003. – №2. – С. 94

8 Нурмаханов Т.И., Сансызбаев Е.Б., Атшабар Б.Б., Казаков С.В., Дерябин П.Н., Сайлаубекулы Р., Кулемин М.В., Есходжаев О.У., Вилкова А.Н., Аймухаметова А.Ч. Сравнительная оценка распространенности вирусов ККГЛ и КЭ в Южно-Казахстанской области // Журнал Окружающая среда и здоровье населения. – 2013. – №2. – С. 31

9 Казаков С.В. Характеристика мойынкумского природного очага Крымской-Конго геморрагической лихорадки в Жамбылской области и основные принципы организации превентивных мероприятий. – Алматы, 2001

10 Werle E., Schneider C., Renner M., Völker M., Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing // Nucleic Acids Res. – 1994. – Vol. 22. – P. 4354-4355

11 Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment // Briefings in bioinformatics. – 2004. – Vol. 5. – P. 150-163

REFERENCES

1 Benjiang MA, Changshou H, Papa A, et al. Sequencing and comparative analysis of the complete glycoprotein gene of three Crimean – Congo hemorrhagic fever virus Chinese isolates. *Chinese J. Exp. Clin. Virol.* 2001;15:105-11

2 Mariott AC, Nuttall PA. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean – Congo hemorrhagic fever, Hazara and Dugbe viruses. *Virology.* 1992;109:795-799

3 Rodriguez L, Maupin GO, Ksiazek TG, et al. Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean – Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1997;57:512-8

4 Hewson R et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: sequence analysis of the small RNA segments from a collection of viruses world wide. *VirusRes*. 2004;102:185-189

5 Temirbekov JT, Kiryushchenko T, Durumbetov EE, et al. New outbreak of Crimean hemorrhagic fever in the area Moyinkum Jambul Region. In: Boundary particular infectious disease epidemiology in Kazakhstan. Conference proceedings. Alma-Ata; 1984. P. 122-5

6 Sansyzbayev Y, Nurmakhanov T, Derjabin P, Atshabar B, Kazakov S, Vilkova A, Aymukhametova A, Hewson R, Hay J, Ayazbayev T, Andrushchenko A, Ramazanova S. Identification of ticks infected with Congo-Crimean hemorrhagic fever (CCHF) in endemic and non-endemic areas of Kazakhstan. In: The 2014 ASM Biodefense and Emerging Diseases Research Meeting is January 27-29. Conference proceedings. Washington; 2014

7 Serzhan OS, Baitanaev AO, Matakov MI, Nurmakhanov TI, Sergean MO, Ponomareva VA, Nuriev KhH, Turmagambetova SU, Klassovskaya EV, Madimov NI, Burtseva VN. Ecological and faunistic analysis of species composition of Hyalomma ticks and their role in the natural focality of the Congo - Crimean hemorrhagic fever. *Karantinnye i zoonoznye infekcii v Kazakhstane = Quarantine and zoonotic infections in Kazakhstan*. 2003;2:94 (In Russ.)

8 Nurmakhanov TI, Sansyzbaev EB, Atshabar BB, Kazakov SV, Deryabin P.N, Saylaubekuly R, Kulemin MV, Eshodzhaev OU, Vilkova AN, Aimukhametova AC. Comparative evaluation of the prevalence of CCHF and TBE viruses in the South Kazakhstan region. *Zhurnal okruzhayushchaya sreda i zdorov'e naseleniya = Journal of Environment and Public Health*. 2013;2:31 (In Russ.)

9 Kazakov SV. *Kharakteristika Moyynkumskogo prirodnogo ochaga Krymskoy-Kongo gemorragicheskoy likhoradki v Zhambylskoy oblasti i osnovnye printsipy organizatsii preventivnykh meropriyatiy* [Characteristic of the Moiynkum natural focus of the Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Zhambyl region and the main principles of the organization of preventive measures]. Almaty; 2001

10 Werle E, Schneider C, Renner M, Völker M, Fiehn W. Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Res*. 1994;22:4354-5

11 Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics*. 2004;5:150-63