

ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

УДК 543.9:616.9-02(571.620)

ВНЕДРЕНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В ПРАКТИКУ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РАСШИФРОВКИ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ХАБАРОВСКОМ КРАЕ

О.Е. Троценко¹, В.О. Котова¹, Е.Ю. Сапега¹, Л.А. Балахонцева¹,
Л.В. Бутакова¹, Е.А. Базыкина¹, Т.В. Корита¹, Т.А. Зайцева^{1, 2},
Ю.А. Гарбуз³, Т.Н. Каравянская^{1, 2}, Е.Н. Присяжнюк³

¹ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск;

²Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, г. Хабаровск;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», г. Хабаровск

Среди диагностических методов исследования в последнее время все большее применение находят молекулярно-генетические методы, изучающие геном возбудителей. В связи с высокой частотой генетической изменчивости энтеро-, рота-, норовирусов, вируса иммунодефицита человека, вирусов гепатитов В и С, в процессе их эволюции происходят различные генетические перестройки, приводящие к возникновению новых внутритиповых геновариантов. В настоящее время стало возможным установление взаимосвязей в очагах указанных инфекций, оценка единства или множественности источников инфекции. Следует отметить важность молекулярно-генетических методов и при расследовании очагов внутрибольничного инфицирования, в частности, вирусом иммунодефицита (ВИЧ-1) человека и вирусами гепатитов В и С. Мониторинг за циркуляцией генотипов вышеуказанных вирусов позволяет обнаружить в популяции новый эпидемический вариант возбудителя, выявить завоз в Россию международных штаммов возбудителей, регистрация которых отмечена в том числе и в Хабаровском крае.

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ, очаги инфекционных заболеваний, расследование внутрибольничного инфицирования, эпидемические варианты возбудителей

IMPLEMENTATION OF MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS METHODS IN ETIOLOGICAL INTERPRETATION PRACTICE OF INFECTIOUS DIS- EASES FOCAL POINTS IN Khabarovsk REGION

¹O.E. Trotsenko, ¹V.O. Kotova, ¹E.Yu. Sapega, ¹L.A. Balakhontseva, ¹L.V. Butakova, ¹E.A. Bazykina, ¹T.V. Korita, ^{1,2}T.A. Zaitseva, ³Yu.A. Garbyz, ^{1,2}T.N. Karavyanskaya, ³E.N. Prisyazhnik

¹Federal Budget Institution of Science "Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology" of the Federal service for surveillance on customer rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Russia, Khabarovsk;

²Administration of Federal service for surveillance on customer rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor) of the Khabarovsk region, Russia, Khabarovsk;

³Federal Government Health Institution "Khabarovsk Region Hygiene and Epidemiology Center", Russia, Khabarovsk

Among diagnostic techniques, methods of molecular-genetic analysis are currently applied more and more often because they allow to study genome of the infectious agent. Due to a high genetic variation of entero-, rota-, noroviruses, human immunodeficiency virus, hepatitis B and C viruses during the process of their evolution different genetic reconfigurations occur that lead to generation of new intratypic genovariants. It is now possible to establish interrelations in the foci of abovementioned infections, evaluate of ubiquity or multiplicity of infection sources. Should be noted the importance of molecular-genetic techniques in investigation of hospital-acquired diseases particularly during investigation of hospital acquired human immunodeficiency virus (HIV-1) and hepatitis B and C viruses. Monitoring of genotype circulation of the abovementioned viruses allows to discover new epidemic variants of infectious agents in the population, detect importation of international strains in Russia, which can be also registered in Khabarovsk region.

Key words: molecular-genetic analysis, infectious diseases focal points, investigation of hospital - acquired disease, epidemic variants of infectious agents.

Основная задача эпидемиологии состоит в выявлении механизмов возникновения и развития эпидемических очагов инфекционных болезней. При этом важная роль в проведении эпидемиологических исследований отводится этиологической диагностике заболеваний. Среди диагностических методов исследования в последнее время все большее применение находят молекулярно-генетические методы, направленные на изучение генома возбудителей.

Следует отметить, что в арсенале молекулярно-генетических методик имеются как скрининговые молекулярно-генетические методы диагностики, так и методы углубленных исследований геномов возбудителей. К числу первых относится наиболее распространенный в лабораторной практике метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Благодаря ПЦР стало возможным не только идентифицировать возбудителя и анализировать большое количество исследуемых проб, но и в ряде случаев, при использовании типоспецифических праймеров, определить генетический вариант возбудителя, а также вирусную нагрузку или концентрацию возбудителя в исследуемом материале [1].

Из числа методов углубленных молекулярно-генетических исследований наиболее распространен анализ нуклеотидных последовательностей наиболее приемлемой части генома возбудителей (так называемое частичное секвенирование). Данный метод используется с целью определения генетического варианта возбудителя (генотипирования), выявления маркеров резистентности и мутаций, проведения филогенетического анализа сходства или различия анализируемого возбудителя с другими вариантами возбудителей, выделенных от разных больных и в различных географических зонах. При этом высокая степень генетического сходства изолированных штаммов может указывать на возможную эпидемиологическую связь вызванных ими случаев заболеваний.

Следовательно, высокотехнологичные методы молекулярно-генетических исследований имеют высокую эпидемиологическую значимость при расследовании механизмов возникновения очагов инфекционных заболеваний, однако они не могут быть массовыми, и для углубленного анализа отбираются лишь отдельные варианты изолятов возбудителей, выделенных с помощью скрининговых методов.

В связи с тем, что Хабаровский НИИЭМ оснащен специальным оборудованием – несколькими комплектами аппаратуры для проведения ПЦР и генетическим анализатором, в учреждении накоплен почти 10-летний опыт работы по изучению молекулярно-генетических характеристик вирусов иммунодефицита человека, вирусных гепатитов В и С, энтеровирусов. В последнее время изучением с использованием метода секвенирования охвачены норо- и ротавирусные кишечные инфекции.

Известно, что Хабаровский край является территорией, эндемичной по заболеваемости энтеровирусной инфекцией (ЭВИ). Каждый год с июня по октябрь в крае наблюдается эпидемический подъем заболеваемости. Ежегодный спектр энтеровирусов, как правило, разнообразный, но при этом доминируют один или несколько вариантов субтипов. В связи с высокой частотой генетической изменчивости, характерной для энтеровирусов в процессе их эволюции, происходят различные генетические перестройки, приводящие к возникновению новых внутритиповых вариантов энтеровирусов, к которым у населения отсутствует иммунитет.

Так, например, проведенное Хабаровским НИИЭМ в 2013-2015 гг. изучение генетических характеристик вируса Коксаки А-6 в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) показало его принадлежность к генотипу D. Несмотря на его занос из стран Юго-Восточной Азии (Китая и Таиланда) на территорию Дальнего Востока, ориентировочно произошедший в 2012-2013 гг. [3], в процессе исследования была выявлена дивергенция (расхождение) нуклеотидных последовательностей в пределах данного генотипа, приведшая к формированию трех субгенотипов D1, D2 и D3. Все три субгенотипа циркулировали и на территории Хабаровского края с 2013 по 2015 гг., вызывая преимущественно малые формы болезни, экзантемы и герпетическую ангину [12].

Данный генетический вариант энтеровируса Коксаки А-6 методом секвенирования был идентифицирован в 2015 году и при вспышке ЭВИ в отдаленном поселении - в пос. Лазарево Николаевского района, для которого эпидемическая заболеваемость энтеровирусной инфекцией не была характерной. Число пострадавших в этом поселке в период с 26 августа по 27 сентября составило 52 человека, в том числе 19 детей детского сада, 12 школьников и 21 неорганизованный ребенок. У 12-ти из 19 детей детского сада молекулярно-генетическим и филогенетическим методами была выявлена полная идентичность генотипа D энтеровируса Коксаки А-6. Это позволило сформулировать точный эпидемиологический диагноз и сделать вывод о формировании очага групповой заболеваемости ЭВИ с единым возбудителем вследствие его заноса в ДДОУ, что способствовало своевременному проведению мероприятий по локализации и ликвидации данного очага.

Особенностью эпидемического сезона ЭВИ в 2015 году в г. Комсомольске-на-Амуре стало явное доминирование в этиологии заболеваний вируса ЕСНО-30, вызвавшего значительный подъем заболеваемости и существенно осложнившего эпидемиологическую ситуацию. Молекулярно-генетическое и филогенетическое изучение комсомольских штаммов ЕСНО-30 выявило их принадлежность к генотипу Н и 100%-ную идентичность хабаровским штаммам 2014 года. С учетом того, что вирусы ЕСНО-30, циркулировавшие в 2015 году также в Приморском крае и Республике Саха (Якутия), генетически отличались от комсомольских штаммов, было сделано предположение о возможном заносе указанного генетического варианта ЕСНО-30 с территории г. Хабаровска в г. Комсомольск-на-Амуре благодаря постоянным двусторонним миграционным потокам населения обоих городов. Однако и хабаровские, и комсомольские штаммы ЕСНО-30 с генотипом Н, согласно филогенетическому анализу, имели общего предка, циркулировавшего в Юго-Восточной Азии [12].

В структуре этиологических агентов, вызывающих очаги острых кишечных инфекций, наибольший удельный вес приходится на ротавирусы и норовирусы, для которых также характерна высокая степень генетического разнообразия.

Так, в настоящее время известно 8 видов ротавируса, обозначаемых латинскими буквами от А до Н (А, В, С, D, Е, F, G, H). Заболевания человека вызывают виды А, В и С, среди которых тип А выделяется наиболее часто. Причем, у ротавируса типа А существуют разновидности, называемые серотипами, для которых используется двойная классификация (G и P) на основе двух белков на вирусной поверхности. Серотипы G определяются гликопротеином VP7, серотипы P – белком VP4. Поскольку два гена вируса, определяющих G и P серотипы, могут отдельно передаваться потомству вирусов, возможны различные их комбинации в составе одного штамма. В настоящее время в мире приблизительно 90% всех случаев ротавирусной инфекции у человека вызвано пятью комбинациями G-P (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] и G9P[8]), при этом превалирует комбинация G1P[8], [8, 11].

По данным референс-центра по мониторингу за острыми кишечными инфекциями Центрального НИИ эпидемиологии [11], методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей среди детей в Хабаровском крае в период с 2006 по 2008 гг. была выявлена циркуляция 4-х типов ротавирусов группы А: G1P[8] – 28 (28,3%); G3P[8] – 8 (8,0%); G4P[8] – 46 (46,5%); G2P[4] – 17 (17,2%); всего 99 штаммов (100%). В 2011-2013 гг. пейзаж генетических вариантов ротавирусов существенно изменился: отмечена циркуляция 6-ти групп штаммов ротавирусов (всего исследовано 55 штаммов), а именно G1P[8] – 5 (9,1%); G3P[8] – 14 (25,4%); G4P[8] – 22 (40,0%); G2P[4] – 3 (5,5%); G9P[8] – 7 (12,7%); Mixt – 4 (7,3%).

Норовирусы, относящиеся к роду *Norovirus* и имеющие так же, как и ротавирусы, большое значение в этиологии очаговой заболеваемости ОКИ, представлены 5-ю геногруппами (GI-GV), из которых три (GI, GII и GIV) инфицируют человека. В свою очередь геногруппы подразделяются на геноварианты (субгенотипы), либо по гену полимеразы (P), либо по гену капсида. Так, у норовирусов 1-ой геногруппы (GI) выделяют 12 генотипов по гену полимеразы (GI.P1-GI.P7, GI.Pa, GI.Pb, GI.Pc, GI.Pd, GI.Pf) и 9 – по гену капсида (GI.1-GI.9); у норовирусов 2-ой геногруппы (GII) – 24 генотипа по гену полимеразы (GII.P1-GII.P22, GII.Pe, GII.Pg) и 21 – по гену капсида (GII.1-GII.21). В пределах каждого генотипа выделяют несколько геновариантов норовирусов. Наибольшее распространение и эпидемиологическое значение получил GII.4 генотип норовирусов [11].

Благодаря молекулярно-генетическому изучению норовируса и выявлению большого генетического разнообразия его вариантов стало возможным установление взаимосвязей в очагах инфекции, оценки единства или множественности источников инфекции, а также выявление в популяции нового эпидемического варианта [14].

Так, при дополнительном использовании метода секвенирования на территории Хабаровского края в 2015 году удалось подтвердить предполагаемые источники и факторы заражения в период 3-х водных вспышек ОКИ норо-, ротавирусной этиологии, наблюдаемых на территориях поселков Советско-Гаванского, Ванинского и Николаевского районов. Водное происхождение вспышек было доказано не только эпидемиологически, но и этиологически обнаружением возбудителей в пробах питьевой воды [5].

Более того, благодаря молекулярно-генетическим исследованиям методом секвенирования, проведенным в Центральном НИИ эпидемиологии и затем в Хабаровском НИИЭМ, было показано, что массивному и стремительному вовлечению населения в данные вспышки способствовал высокий эпидемический потенциал возбудителя норовирусной инфекции. Выделенный от больных во время вспышек генетический вариант норовируса GII.17/GII.P17, вызывавший первоначально вспышки ОКИ в Юго-Восточных провинциях Китая [10] стал новым для Хабаровского края. Вполне вероятно, что в результате больших миграционных потоков произошло трансграничное распространение этого нового геноварианта норовируса на территорию Хабаровского края.

Следует отметить важность молекулярно-генетических методов и при расследовании очагов внутрибольничного инфицирования (ВБИ), в частности, вирусом иммунодефицита (ВИЧ-1) человека и вирусами гепатитов В и С. Геномы указанных агентов также обладают высокой вариабельностью.

Информация о субтипах ВИЧ-1 может быть использована при проведении локальных вспышек (очагов). Так, согласно принятой в 1999 году номенклатуре ВИЧ-1 для него выделены три независимые группы вирусов: М, О, N. Большинство известных в настоящее время изолятов ВИЧ-1 относится к группе М. Широко распространенными в мире субтипами ВИЧ-1 группы М являются А, В, С, в меньшей степени – D, F, G. Субтипы H, J, K встречаются редко. Циркуляция субтипов ВИЧ-1 на конкретной территории связана с определенными закономерностями генетической изменчивости вируса группы М и с эпидемиологическими особенностями ВИЧ-инфекции [2, 4].

В настоящее время на территории Дальневосточного федерального округа (ДФО) Российской Федерации продолжает доминировать субтип А1, который в период с 2013 по 2015 гг. выявлен в 70,7% случаев. Значительно меньшая доля приходится на субтипы В и С – соответственно 2,2% и 1,6%, а также на рекомбинантные формы CRF01_AE, CRF03_AB, CRF_cpx – соответственно 1,4%, 0,7% и 0,7%. В последние годы в ДФО отмечена широкая циркуляция рекомбинантной формы вируса подтипа A/G – CRF02_AG, которая более широко распространена в Казахстане, Узбекистане, Таджикистане, а также на Алтае и в Новосибирской области. В связи с ростом внешней и внутренней миграции вполне вероятен завоз данной рекомбинантной формы на территорию ДФО, в том числе в Хабаровский край [7].

В случае возникновения ВБИ, обусловленного ВИЧ, для определения связи между биологическими образцами от пациентов из одной эпидемиологической цепи имеется возможность методом секвенирования провести генотипирование образцов крови всех инфицированных ВИЧ из предполагаемого очага инфекции. При этом, алгоритм включения образцов крови в основную, контрольную группы и группу сравнения, а также порядок направления проб на генотипирование подробно изложен в МУ 3.1.3342-16. По результатам последующего филогенетического анализа можно сделать вывод о наличии либо отсутствии эпидемиологической связи искомого образца с остальными образцами исследуемой группы. При этом, высокой ценностью обладает отрицательный результат, позволяющий сузить круг поиска предполагаемых источников заражения. В свою очередь, позитивный результат может указать на вероятный источник [13].

В дополнение к результатам филогенетического анализа путем определения факторов клеточного иммунитета методом проточной цитофлюорометрии достижимо ориентировочно предположить давность инфицирования ВИЧ-1. Так, индикатором поздней диагностики (в сроки более 4-х лет с момента предполагаемого заражения) может служить выраженный иммунодефицит (CD4 менее 350 кл/мкл).

В случае внутрибольничного заражения вирусом гепатита С при эпидемиологическом расследовании допустимо использовать более доступный практике здравоохранения метод ПЦР-типирования для определения принадлежности вируса к одному из наиболее распространенных генотипов: 1a, 1b, 2b и 3a. Это стало возможным благодаря использованию в наборах ПЦР-типирования субтип-специфических праймеров, соответствующих области core (С) генома вируса гепатита С. Однако в случае возникновения внутрибольничного инфицирования как вирусным гепатитом С, так и вирусным гепатитом В, лучшим методом типирования все же является секвенирование.

К настоящему времени установлено значительное генетическое разнообразие и для вируса гепатита В, включающее восемь основных генотипов, обозначаемых буквами от А до Н. Генотипы отличаются друг от друга структурой генома не менее чем на 8,0%. Дальнейшее таксономическое дробление предусматривает деление генотипов на субгенотипы, имеющие более 4,0%, но не менее 8,0% данных различий. Для каждого генотипа характерна определенная географическая зона распространенности, например, генотип А превалирует в Северной Америке и Западной Европе, генотипы В и С характерны для Китая и других стран Юго-Восточной Азии, D доминирует в странах Восточной Европы, Е – в Западной Африке, А – в Южной Америке, Н – среди жителей Центральной Америки.

Распространенность генотипа G изучена недостаточно. В Российской Федерации распространены генотипы A, C и D, причем частота выявления последнего достигает 90,0% [9].

Мониторинг за циркуляцией генотипов вируса гепатита В позволяет выявлять завозные случаи заболевания, в том числе и в Хабаровском крае. Так, изучение молекулярно-генетических особенностей вирусов гепатита В, обнаруженных как среди коренного населения города Хабаровска, так и среди лиц, прибывших с ближнего и дальнего зарубежья, выявило среди трудовых мигрантов из Вьетнама и Северной Кореи нетипичный для Хабаровского края генотип В. При этом, наиболее широко распространенный генотип D у населения г. Хабаровска отличался неоднородностью и был представлен тремя субгенотипами D1, D2, D3 [6].

Таким образом, диагностические возможности молекулярно-генетических методов в эпидемиологии не исчерпываются использованием их для выявления источников инфекции и факторов передачи возбудителя во время эпидемических вспышек. Более важным назначением молекулярно-генетических методов в эпидемиологии является молекулярно-генетический мониторинг, т.е. слежение за популяционной структурой возбудителей инфекции с целью выявления предвестников осложнения эпидемиологической ситуации, её прогнозирования и обоснования своевременного вмешательства в ход эпидемического процесса.

Следует еще раз отметить, что молекулярно-генетический мониторинг позволяет выявить два основных процесса, которые могут привести к развитию эпидемически значимых событий: 1) занос (завоз) возбудителя в популяцию извне; 2) спонтанную генетическую дивергенцию, приводящую к формированию субгенотипов и перестройке популяции возбудителей в конкретной географической зоне или этнической популяции.

Особую угрозу при заносе представляют международные эпидемические варианты возбудителей, благодаря своим вирулентным свойствам и повышенной контагиозности. Такие эпидемически значимые штаммы способны преодолевать большие расстояния и охватывать обширные популяции людей, находящихся в разных странах и на разных континентах.

Международные штаммы возбудителей с высоким эпидемическим потенциалом регистрируются и на территории Хабаровского края. Это и энтеровирусы 71 типа, Коксаки А-6, 10, 16 с эпидемическим распространением в странах Азиатско-Тихоокеанского региона; это и новый для населения Хабаровского края вариант норовируса субтипа GII.17/GII.P17, первоначально вызывавший вспышки ОКИ в Юго-Восточных провинциях Китая; это и вирусы гепатита В генотипа В, выявленные у трудовых мигрантов из Вьетнама и Северной Кореи и нехарактерные не только для Хабаровского края, но и для Российской Федерации в целом; это и недавно появившаяся в циркуляции и достаточно широко распространившаяся на территории ДФО РФ новая рекомбинантная форма ВИЧ-1 подтипа A/G – CRF_AG.

Литература

1. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. М.: Медицина. – 1989. – 416 с.
2. Бобкова М.Р. Молекулярно-генетические методы в изучении эпидемиологии инфекций, возбудители которых передаются парентеральным путем: Автореф. дисс. ... д-ра. биол. наук. – М., 2002. – 42 с.
3. Бутакова Л.В., Троценко О.Е., Сапега Е.Ю., Котова В.О., Балахонцева Л.А., Зайцева Т.А., Курганова О.П. Применение молекулярно-генетических методов при расследовании вспышек энтеровирусной инфекции в субъектах Дальневосточного федерального округа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. - №2 (87). – С. 43-46.
4. Зайцева Н.Н., Ефимов Е.И., Носов Н.Н., Парфенова О.В., Пекшева О.Ю. Современные молекулярно-генетические методы исследования в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией // МЕДИАЛЬ. – 2014. - №2 (12). – С. 122-133.
5. Зайцева Т.А., Каравянская Т.Н., Чистяк В.М., Гарбуз Ю.А., Резник В.И., Лебедева Л.А., Троценко О.Е., Корита Т.В. Роль водного фактора в возникновении вспышечной заболеваемости острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии (на примере Хабаровского края) // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015. - №29. – С. 17-25.
6. Котова В.О., Балахонцева Л.А., Сапега Е.Ю., Троценко О.Е., Зайцева Т.А. Использование современных молекулярно-генетических методов в изучении генетического разнообразия штаммов гепатита В на территории г. Хабаровска // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. - №2 (87). – С. 40-42.
7. Котова В.О., Балахонцева Л.А., Троценко О.Е. Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1 в регионах Дальневосточного федерального округа // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2016. – Том 8. - №3. – С. 53-58.
8. Кудрявцев В.В. Современные проявления эпидемического процесса ротавирусной инфекции и пути оптимизации эпидемиологического надзора: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2015. – 22 с.

9. Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов. – М.: Изд-во ИКАР, 2013. – 336 с.
10. О мерах по оптимизации эпидемиологического надзора за ОКИ, в том числе норовирусной этиологии: Письмо Роспотребнадзора от 17.06.2015 №01/6840-15-27. – 4 с.
11. Подколзин А.Т. Эпидемиологическая и клиническая характеристика острых кишечных инфекций вирусной этиологии в Российской Федерации: Автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук. –М., 2015. – 44 с.
12. Сапега Е.Ю., Бутакова Л.В., Котова В.О., Амяга Е.Н., Троценко О.Е. Молекулярно-биологические особенности циркуляции энтеровирусов в Дальневосточном федеральном округе Российской Федерации в 2014-2015 годах // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2016. - №30. – С. 38-44.
13. Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией: МУ 3.1.3342-16. – М., 2016.
14. Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика норовирусной инфекции: МУ 3.1.1.2969-11. Утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 25 ноября 2011 г.

Сведения об авторах:

Троценко Ольга Евгеньевна – доктор медицинских наук, директор ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, 8(4212)32-52-28, adm@hniiem.ru
