

Г.А.Ерошенко

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
БИОЛОГИИ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ*Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов*

Представлены материалы второй международной конференции по биологии вибрионов «Vibrio 2007» (Париж, 28 ноября – 1 декабря 2007 г.). Отражены основные направления современных исследований вибрионов, связанные с их биоразнообразием, особенностями организации генома, патогенностью, эпидемиологией и экологией.

Ключевые слова: вибрионы, биоразнообразие, организация генома, патогенность, эпидемиология, экология.

28 ноября – 1 декабря 2007 г. во Франции состоялась вторая международная конференция по биологии вибрионов «Vibrio 2007», которая собрала около 250 участников из 35 стран мира. Конференция «Vibrio 2007» проводилась в Париже в институте им. Л.Пастера, который является крупнейшим научно-исследовательским и методическим центром и имеет свои филиалы в 200 странах мира. Сам факт проведения в институте им. Л.Пастера международной конференции по вибрионам и большое количество участников, принявших участие в работе форума, свидетельствуют о большом значении этой группы бактерий для здоровья и хозяйственной деятельности человека. После успеха первой конференции по биологии вибрионов, состоявшейся в Генте (Бельгия) в ноябре 2005 г., в работе которой участвовало 130 ученых из 32 стран мира, ни у кого не возникло сомнения в необходимости проведения новых международных форумов, посвященных изучению вибрионов.

В настоящее время известно около 80 видов вибрионов, некоторые из них – *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* наносят значительный вред здоровью населения планеты. Не меньшее значение имеют и другие виды вибрионов, такие как *V. anguillarum*, *V. harvei* и *V. salmonicida*, которые вызывают заболевания морских животных, рыб и моллюсков, а также *V. shiloi*, *V. coralliilyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. rotiferianus*, *V. proteolyticus*, являющиеся причиной массовой гибели колоний кораллов на обширных пространствах водного мирового бассейна. На основе использования вибрионов в настоящее время ведутся многочисленные биотехнологические исследования – создание вакцин, производство биоактивных компонентов, а также проводится мониторинг окружающей среды.

Целью второй конференции по биологии вибрионов было обсуждение в кругу ведущих исследователей из различных стран достигнутых за последние годы результатов и выработки дальнейшей стратегии и тактики изучения вибрионов. В конференции приняли участие специалисты по таксономии и экологии бактерий, генетики, молекулярные биологи, а также работники здравоохранения, научная молодежь.

Условно все выступления на «Vibrio 2007» были разделены по 4 секциям – биоразнообразие, генетика/геномика, болезнь/эпидемиология, экология и прикладные аспекты. Отличительной чертой всех представленных докладов был высокий методический уровень и разносторонний многоуровневый анализ представляемого материала. Одним из главных достижений последних лет, безусловно, является определение полной последовательности геномов ряда видов *Vibrio*. Секвенированы полные геномы 7 видов вибрионов, а у 20 видов этих микроорганизмов работы по секвенированию близятся к завершению. В целом к настоящему моменту секвенировано более тысячи бактериальных геномов. Большинство работ по секвенированию бактерий выполнены по методу F.Sanger (1973), но уже разработаны новые методологии, которые позволяют достигнуть еще более высокой скорости секвенирования [17]. Среди них метод пиросеквенирования, с помощью которого можно секвенировать бактериальный геном в короткие сроки и с небольшими материальными затратами.

Сегодня через более чем десять лет от начала секвенирования первых бактериальных геномов можно сделать вывод о том, что бактерии обладают гораздо большим генетическим разнообразием (даже на уровне одного вида), чем можно было предположить ранее. Это разнообразие обеспечивается множеством механизмов, среди которых важную роль играют мобильные генетические элементы и фаги. R.Colwell (США) во вступительной лекции «Сравнительная геномика *Vibrio cholerae* и родственных таксономических единиц» провела анализ современных данных по организации геномов вибрионов и ее взаимосвязи с их жизненными циклами. В связи с большим количеством видов вибрионов, их генетическим разнообразием и мозаичностью структуры геномов R.Colwell были подняты вопросы о том, существуют ли в природе виды вибрионов, как четки границы между ними, и что такое на самом деле вид *V. cholerae*?

Ответы на часть поставленных в лекции R.Colwell вопросов прозвучали в докладе D.Usseri (Дания) «О происхождении бактериальных видов» [17]. По его данным, на секвенирование генома одной бактерии

в настоящее время необходимо потратить всего несколько часов работы и одну тысячу долларов США, а для того чтобы выполнить полный компьютерный анализ секвенированного генома, провести сборку последовательностей ДНК и определить возможные функции большинства генов понадобится несколько часов работы (в течение одной ночи) на мощном «суперкомпьютере». На основании анализа более чем тридцати последовательностей геномов ряда видов *Vibrio* выявлены кластеры генов, которые уникальны только для вида *V.cholerae*. Поскольку на сравнение этих 30 геномов между собой (равно как и геномов других бактерий) для выяснения сходства и различия между ними требуется очень много времени, D.Usseri с соавт. разработана новая программа «BLAST atlas» (<http://www.cbs.dtu.dk/services/GenomeAtlas/suppl/zoomatlas/>). С помощью этой программы показано, что, в среднем, геном *V.cholerae* включает около 3800 генов, а «пангеном» (все гены, которые содержатся во множественных геномах *V.cholerae*) почти в два раза больше и составляет около 7000 генов. Пангеном рода *Vibrio* содержит более 20000 генов, из которых консервативными «коровыми» генами рода *Vibrio* являются только 500 генов, в то время как «коровый» геном *V.cholerae* составляет 1800 генов.

Наряду с секвенированием полных геномов проводится поиск последовательностей генов, которые могут быть использованы для дифференциации вибрионов на основе метода мультилокусного секвенирования. В докладе F.Thompson с соавт. (Бразилия) была представлена стандартная схема для идентификации всех известных в настоящее время представителей рода *Vibrio* на основе мультилокусного секвенирования генов *pyrH*, *recA* и *rpoA* [16]. Эта схема может быть дополнена генами *flysZ*, *gapA*, *gyrB*, *mreB* и *topA*. На основе использования представленных генетических локусов штаммы, относящиеся к одному виду, будут иметь не менее 95% гомологии, а близкие между собой штаммы образуют четко отличимые филогенетические группы. Данные интернет-ресурсов TAXVIBRIO по секвенированию этих генов у различных видов *Vibrio* представлены по адресу: (<http://www.taxvibrio.incc.br/>).

Наряду с *V.cholerae*, патогенным для человека является вид *V.parahaemolyticus*. Вызываемые им заболевания связаны с потреблением сырых морепродуктов, а наблюдаемый рост заболеваемости обусловлен появлением и распространением пандемического штамма, вызывающего острые вспышки по всему миру. В докладе A. DePaolo с соавт. (США) предложена схема мультилокусного секвенирования штаммов *V.parahaemolyticus* на основе 7 генов, участвующих в жизнеобеспечении вибрионов (<http://pubmist.org/vparahaemolyticus>). Использование предложенной схемы выявило высокую генетическую гетерогенность этого вида и указало на наличие в геноме частых генетических рекомбинаций [4].

На конференции были представлены данные (E.Hjerde с соавт., Швеция) о полном секвенирова-

нии генома патогенного для рыб вида *V.salmonicida*, который вызывает в условиях низкой температуры вибриоз у морских аквакультур и является причиной деградации тканей, гемолиза и сепсиса *in vivo* [6]. Для установления механизмов патогенности *V.salmonicida* проведено секвенирование генома штамма LFI1238, которое показало, что этот вид содержит две хромосомы и 4 плазмиды с общим размером генома 4,6 млн п.н. Установлено, что геном *V.salmonicida* имеет высоко фрагментированную структуру, обусловленную внедрением почти 300 инсерционных последовательностей. Широкое распространение IS элементов и вызванные ими хромосомные перестройки, которые привели к утрате функций многих специализированных генов (утилизация хитина и другие), но не генов, необходимых для жизнедеятельности, свидетельствуют о том, что вид *V.salmonicida* претерпел смену занимаемой им эволюционной ниши благодаря приобретению новой генетической информации (возможно, плазмид). Выявлено несколько генов, которые могут вносить вклад в патогенность этого вида, в том числе кодирующих нескольких гемолизин, однако никаких классических факторов вирулентности не выявлено.

Установлено, что все члены семейства *Vibrionaceae* имеют 2 хромосомы. В ряде представленных на конференции докладов рассмотрены вопросы о механизмах взаимодействия двух хромосом в клетках вибрионов. В сообщении M.Waldor с соавт. (США) обсуждался механизм сегрегации хромосом *V.cholerae* и показано, что динамика разделения двух хромосом различна, что определяется различными Par системами (от англ. partitioning – расхождение), включающими два ортолога – белки ParA и ParB [19]. Par системы у *V.cholerae* функционируют независимым способом и обуславливают разные механизмы сегрегации двух хромосом. F.-X.Varee с соавт. (Франция) рассмотрел роль в сегрегации хромосом системы Xer/FtsK, которая состоит из двух сайт-специфических рекомбиназ XerC и XerD и ДНК транслоказы – FtsK и необходима для терминальной сегрегации хромосом [18]. Важность изучения Xer/FtsK системы терминальной сегрегации связана также с тем, что Xer система сайт-специфической рекомбинации широко используется различными филоментозными бактериофагами, в том числе CTXphi с генами холерного токсина, для интеграции их однонитевого генома в двунитевой геном вибрионов.

Включение новых последовательностей ДНК в геном вибрионов может происходить с помощью интегров. D.Mazel (Франция) указал на то, что эти элементы способны включать открытые рамки считывания и переводить их в функционально активные гены за счет обеспечения правильной экспрессии [10]. Интегроны играют главную роль в возникновении множественной лекарственной устойчивости у клинических штаммов грамотрицательных бактерий. Эти структуры также часто выявляют в геноме многих бактериальных видов, выделяемых из окру-

жающей среды, в том числе в большинстве видов *Vibrio*, где они могут собирать в суперинтегронах сотни кассет с генами, повышающими адаптационные свойства вибрионов.

С помощью суперинтегронного острова холерными вибрионами были приобретены системы секреции 3 и 6 типов (СС3Т и СС6Т). Недавно при секвенировании генома холерного вибриона не O1/не O139 серогруппы *V. cholerae* AM-19226, который изолирован от больного с острой диареей, установлено, что в состав суперинтегрона, расположенного на второй хромосоме *V. cholerae*, входит кластер генов, кодирующих функционально активную СС3Т [3]. В своей лекции «Актин как мишень систем секреции 3 и 6 типов» J. Mekalanos (США) рассказал о механизмах действия СС3Т и СС6Т. J. Mekalanos предложена модель того, как компоненты СС6Т могут собираться в пространстве между бактериальной клеткой и клеткой-мишенью. СС6Т обеспечивает попадание эффекторных белков семейства VgrG в клетку хозяина, что приводит к образованию перекрестных связей актина в макрофагах млекопитающих. Показано также, что эффектор СС3Т – белок VopF может также связывать актин у эукариотических клеток, как и другой бактериальный токсин – RTX, действие которого приводит к утрате трансэпителиальной устойчивости и образованию перекрестных связей с актином.

T. Iida с соавт. (Япония) сообщил о наличии у *V. parahaemolyticus* двух СС3Т, гены которой выявлены у этого вызывающего пищевые гастроэнтериты вида в результате секвенирования генома штамма RIMD2210633 [7]. Конструирование серии мутантов и сравнительная геномная гибридизация показали, что обе системы секреции (СС3Т1 и СС3Т2) являются функционально активными и могут играть роль в патогенности этого вида вибрионов.

В докладе J.H. Rhee (Южная Корея) обсуждалась роль токсина RTX в патогенезе *V. vulnificus* [9]. *V. vulnificus* вызывает быструю гибель клеток макроорганизма и фатальную септицемию. Этот вибрион является морской бактерией, но способен вызывать заболевания человека и животных. Летальный исход при первичной септицемии, вызванной *V. vulnificus*, составляет более 50 %, а скорость развития фатального исхода самая высокая среди всех возбудителей пищевых токсикоинфекций. J.H. Rhee с соавт. [9] показано, что мутация в гене *rtxA* вызывала дефект в цитотоксичности, в то время как мутации в генах гемолизина (*vvhA*) и металлопротеазы (*vvpE*) не приводили к значительному падению цитотоксичности. Экспрессия RtxA1 увеличивалась после контакта с клеткой, в которой этот эндотоксин приводил к перестройке цитоскелета, образованию пузырьков в плазматической мембране и, в конечном итоге, к некротической смерти клетки. RtxA1 вызывал агрегацию актина и гемолиз посредством образования пор (радиус 1,63 нм). Нуль-мутация в RtxA1 приводила к более чем 100-кратному увеличению LD₅₀ при внутрижелудочном и внутрибрюшинном заражении

мышей. Из этого следует, что RTX является мультифункциональным токсином и необходимым фактором вирулентности *V. vulnificus*.

Таким образом, значительную роль в патогенности различных вибрионов играют недавно обнаруженные системы секреции – СС3Т и СС6Т, а также хорошо известный бактериальный токсин RTX. Роль и функции последнего оказались гораздо более широкими и важными, чем это считалось ранее. Выявлены и другие факторы патогенности вибрионов. В докладе J.D. Oliver (США) сообщалось о том, что патогенным для человека является биотип I *V. vulnificus*, который состоит из двух геновариантов: С (клинические источники) и Е (преобладает в устрицах) [13]. Оба геноварианта очень схожи по большинству фенотипических признаков. Однако С-штаммы выживают в человеческой сыворотке, в то время как Е-штаммы имеют к ней высокую чувствительность. Это связано с наличием у С-генотипа гена сидерофора *viuB*, экспрессия которого обеспечивает гораздо большую выживаемость в сыворотке крови штаммов этого геноварианта по сравнению со штаммами, у которых ген *viuB* отсутствует. Добавление ионов железа к человеческой сыворотке уравнивает выживание Е- и С-штаммов. Редкие Е-штаммы с геном *viuB* имеют такую же выживаемость в сыворотке, что и С-штаммы.

D. Bartlett с соавт. (США) установили наличие у *V. cholerae* нового холерного токсина, названного им cholix токсин [1]. Показано, что этот токсин имеет структуру, необходимую для инфицирования клеток млекопитающих за счет эндоцитоза с последующей транслокацией в цитоплазму эукариотической клетки и ингибированием биосинтеза белка за счет специфической модификации фактора элонгации 2. Гены cholix токсина содержатся во многих штаммах *V. cholerae*, циркулирующих в различных регионах мира. Этот токсин может быть важным фактором вирулентности, а также играть значительную роль в выживании *V. cholerae* во внешней среде. В докладе D. Bartlett [1] прозвучала оценка роли индола в жизнедеятельности холерных вибрионов. Индол является сигнальной молекулой, влияющей на образование биопленки у целого ряда бактерий. В том числе индол вызывает избыточную экспрессию у *Vibrio* генов, участвующих в продукции полисахарида, необходимого для образования биопленки. Индол также может влиять на экспрессию других генов, определяющих подвижность, устойчивость к поеданию простейшими, потребление железа и транспорт ионов.

Вопрос о роли небольших регуляторных молекул РНК в системах Quorum sensing в пандемических штаммах *V. cholerae* поднят В.К. Hammer (США) [5]. Используя процессы, называемые Quorum sensing, бактерии сообщаются между собой посредством внеклеточных сигнальных молекул, называемых аутоиндукторами. Аутоиндукторы помогают бактериям координировать экспрессию генов на популяционном уровне и вести себя единообразным

образом, наподобие многоклеточных организмов. Информация аутоиндукторов влияет на транскрипцию множественных регуляторных РНК, которые подавляют трансляцию мРНК, кодирующую главный трансляционный регулятор *HarR*. В *V. cholerae* *HarR* контролирует экспрессию факторов вирулентности и образование биопленки. В то же время В.К. Hammer с соавт. [5] обнаружен *HarR*- независимый путь с участием небольших регуляторных РНК, действующий у классических холерных вибрионов, которые, несмотря на наличие нефункционального *HarR*, демонстрируют контролируемую системой quorum sensing экспрессию генов. Механизмы образования биопленки изучаются в настоящее время и у других вибрионов. D.A. Rowe-Magnus (Канада) обсуждена проблема образования биопленки у *V. vulnificus* [12]. Предполагается, что образование биопленки играет важную роль в колонизации этой бактерией кожных покровов у рыб, а также в выживании *V. vulnificus* во внешней среде. Экспрессия факторов вирулентности, образование биопленки и подвижность у других бактерий часто регулируется циклическим di-GMP. D.A. Rowe-Magnus с соавт. [12] обнаружили ген, в случае избыточной экспрессии которого наблюдается резкое возрастание образования биопленки и увеличивается ругозность поверхности клеток. Белок содержит GGDEF домен, наличие которого предполагает, что он относится к дигуанилатциклазам и участвует в синтезе c-di-GMP. Образующий полисахарид относится к новым высокомолекулярным полисахаридам и способствует лучшей адаптации *V. vulnificus* во внешней среде и увеличению способности колонизировать кожные покровы рыб.

На конференции также обсужден вопрос об эволюции *V. cholerae* в сторону появления более вирулентного возбудителя холеры. В докладе В. Naig (Индия) рассказал о механизмах возникновения новых более тяжелых форм заболевания [11]. В 2002 г. им выделены новые варианты холеры, которые содержали смешанную комбинацию свойств классического и эльтор биоваров и были названы Матлабскими вариантами. Эти варианты содержали ген *rstR* классического типа. Значение Матлабских штаммов выросло после того, как в Мозамбике в 2005 г. были выделены штаммы биовара эльтор, которые содержали классический СТХ профаг. Недавно В. Naig с соавт. обнаружили, что с 2001 г. штаммы *V. cholerae* O1 биовара эльтор образуют ХТ классического подтипа, что свидетельствует о происходящих изменениях вирулентных свойств в штаммах биовара эльтор – этиологических агентах 7 пандемии холеры. Количество случаев холеры среди других заболеваний в госпитале в Дакке увеличилось от 15,9 % в 2001 г. до 30,8 % в 2005 г., причем отмечено резкое увеличение числа случаев с высокой дегидратацией. Штаммы эльтор, ассоциированные с холерой, в настоящее время в Бангладеш образуют ХТ классического биотипа, что, по-видимому, является доказательством эволюции более вирулентного варианта возбудителя.

В последнее время выявлены новые взаимоотношения холерных вибрионов с различными организмами. В докладе Y. Kashi (Израиль) освещены аспекты взаимодействия *V. cholerae* с хириномидами – некусающими комарами (Diptera, Chironomidae) [8]. Установлено, что яйцевые массы хириномидов содержат биополимер, который служит питательным веществом для холерных вибрионов. Бактерии используют секретируемую гемагглютининпротеазу НА/Р для деградации яйцевых масс. Кроме того, установлено, что взрослые летающие насекомые являются носителями *V. cholerae* и могут переносить бактерии из одного водоема в другой. Таким образом, хириномиды являются, возможно, природными резервуарами холерных вибрионов и могут участвовать в диссеминации *V. cholerae*.

G. Sandsrom (Швеция) сообщил о том, что холерные вибрионы способны выживать внутриклеточно в свободноживущей амебе *Acanthamoeba castellanii* [15]. Результаты исследований по совместному культивированию *V. cholerae* O1 (классического и эльтор биоваров) и O139 показали увеличение роста и выживания бактерий, культивируемых совместно с амебами, по сравнению с отдельно выращиваемыми клетками вибрионов. Бактерии росли в трофозоидах *A. castellanii*, а также обнаруживались в цистах. Внутриклеточный рост и выживание бактерий не ингибировали рост *A. castellanii*. По-видимому, *V. cholerae* и *A. castellanii* находятся во взаимоотношениях эндосимбионт-хозяин.

Различные виды *Vibrio* могут вызывать заболевания и даже гибель кораллов. J.M. Cervino (США) сообщил о том, что причиной болезни кораллов в Карибском море и Тихом океане являются *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. rotiferianus*, *V. proteolyticus*, а также новая группа видов *Vibrio* [2]. Этиологическим агентом заболевания, называемого «побелением» кораллов вида *Oculina patagonica*, является *V. shiloi*, а кораллов вида *Pocillopora damicornis* – *V. coralliilyticus* [14]. *V. shiloi* проявляет хемотаксис к слизи кораллов *O. patagonica*, связывается с галактозосодержащим рецептором на поверхности кораллов, проникает в экзодерму, размножается внутриклеточно и образует ингибитор фотосинтеза пептидов. Однако начиная с 2003 г. кораллы *O. patagonica* приобрели резистентность к *V. shiloi*, несмотря на отсутствие у этих животных иммунной системы. E. Rosenberg (Израиль) предположил, что в биоценозе кораллов появилась бактерия, которая может противодействовать *V. shiloi*. На основании этих данных E. Rosenberg сформулировал гипотезу о гологеноме (общем геноме животных, растений и бактерий, входящих в биоценоз) и о значении микроорганизмов – симбионтов в эволюции животных и растений.

Таким образом, вторая международная конференция по вибрионам «Vibrio 2007» имела несомненный успех и собрала вместе ученых, работающих над изучением различных аспектов биологии вибрионов. Конференция дала возможность обсудить новейшие

данные по биоразнообразию вибрионов, их генетике, эпидемиологии, экологии и различным прикладным аспектам, а также наметить дальнейшие наиболее перспективные направления исследований. Была отмечена высокая пластичность геномов *Vibrio* и высокая скорость адаптации вибрионов к условиям внешней среды. Исследования вибрионов с применением современных молекулярно-биологических и компьютерных технологий обеспечат в дальнейшем лучшее понимание особенностей биологии этой большой и важной группы морских бактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-48727.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bartlett D. // Materials of second conference on the biology of vibrios «Vibrio 2007» Paris, 28 Nov. – 1 Dec. 2007, Absr. Book, Institut Pasteur, Centre d'Information Scientific. – Paris, 2007. – P. 6. – 2. Cervino J.M., Lorence E.A., Thompson F.L. *et al.* // Там же. – P. 34. – 3. Dziejman M., Serutto D., Tam V.S. *et al.* // PNAS. – 2005. – Vol. 102, N 9. – P. 3465–3470. – 4. Gonzalez-Escalona N., Martinez-Urtaza J., Romero J. *et al.* // Materials of second conference on the biology of vibrios «Vibrio 2007» Paris, 28 Nov. – 1 Dec. 2007, Absr. Book, Institut Pasteur, Centre d'Information Scientific. – Paris, 2007. – P. 7. – 5. Hammer B.K., Bassier B.L. // Там же. – P. 14. –

6. Hjerde E., Lorentzen M.S., Holden M.T.G. *et al.* // Там же. – P. 13. – 7. Iida T. // Там же. – P. 10. – 8. Kashi Y. // Там же. – P. 8. – 9. Kim Y.R., Lee S.E., Kook H.E. *et al.* // Там же. – P. 29. – 10. Mazel D. // Там же. – P. 17. – 11. Nair G.B., Bhuiyam N.A., Nusrin S. *et al.* // Там же. – P. 26. – 12. Nakhamchik A., Wilde K., Rowe-Magnus D.A. // Там же. – P. 20. – 13. Oliver J.O., Bogard R., Warner E. *et al.* // Там же. – P. 30. – 14. Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. // Там же. – P. 32. – 15. Saeed A., Abd H., Edvinsson B. *et al.* // Там же. – P. 22. – 16. Thompson F.L., Sawabe T., Thompson C.C. *et al.* // Там же. – P. 4. – 17. Ussery D.W. // Там же. – P. 3. – 18. Val M.-E., Barre F.-X. // Там же. – P. 12. – 19. Yamaichi Y., Fogel M.A., Waldor M.K. // Там же. – P. 11.

G. A. Yeroshenko

Main Trends of the Up-to-Date Research of Cholera Vibrios Biology

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

The review presents the data covered during the Second International Conference on the Biology of Vibrios "Vibrio 2007" (Paris, from November, 28th to December, 1st, 2007). Set forth are main trends of state-of-the-art vibrios research concerning their biodiversity, the peculiarities of genome arrangement, pathogenicity, epidemiology and ecology.

Key words: Vibrios, biodiversity, genome arrangement, pathogenicity, epidemiology, ecology.

Поступила 26.02.08.

УДК 616.981.452+576.858:616-097

Т.А.Малюкова, Т.А.Костюкова, Е.М.Головко, М.Н.Ляпин, С.А.Щербакова, Е.А.Плотникова, Е.В.Найденова

ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА, ОТОБРАННОГО В СОПРЯЖЕННЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ И АРБОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ, К ПРОВЕДЕНИЮ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. Сообщение 2

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Представлены результаты второго этапа исследований по использованию β-пропиолактона для обеззараживания возбудителя чумы. Показано, что препарат в концентрации 0,1 % при экспозиции 18–24 ч в условиях холодильника, а также не менее 6 ч при температуре 37 °С обеззараживает *Yersinia pestis* 231 как во взвесах, так и в суспензиях из внутренних органов. Предложены оптимальные режимы подготовки материала, отобранного в сопряженных очагах чумы и арбовирусных инфекций, к проведению иммунологического исследования.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, арбовирусы, обеззараживание, β-пропиолактон, ИФА.

При проведении иммунологических исследований материал подвергают предварительной обработке с целью обеззараживания. При подозрении на наличие возбудителя чумы используют формалин [1], для инактивации арбовирусов – β-пропиолактон (БПЛ) [2]. Отсутствие регламентированных способов инактивации образцов, одновременно содержащих чумной микроб и арбовирусы, и наличие реальных сопряженных природных очагов данных инфекций определяют актуальность поиска единого способа обеззараживания.

Полученные в ходе первого этапа исследований [3] положительные результаты обеззараживания взвесей из культур вакцинного штамма чумного

микроба с помощью 0,1 % БПЛ (конечная концентрация в пробе) при температуре 4 °С и экспозиции 6 ч позволили сделать предположение о возможности использования препарата для обработки взвесей вирулентных культур чумного микроба, а также суспензий из органов зараженных ими лабораторных животных.

Известно, что для инактивации инфекционной активности арбовирусов с помощью 0,05–0,1 % БПЛ (конечная концентрация в пробе) рекомендовано два режима: при 37 °С в течение 8–10 ч и при 4 °С в течение 96 ч [2]. Способ обработки в заданных режимах обеспечивает надежность инактивации и высокую чувствительность серологических реакций, прово-