

И.Н.Шарова¹, И.В.Кутырев², В.Е.Куклев¹, Т.Ю.Красовская¹, В.Н.Чекашов¹, А.Н.Матросов¹, М.М.Шилов¹, С.А.Яковлев¹, А.Н.Куличенко³, В.И.Ефременко³, Н.И.Тихенко³, Е.В.Жданова³, Е.А.Цыганкова³, И.В.Жарникова³, А.М.Бабий³, Д.Б.Сурхаев⁴, Л.А.Бредгауер⁴, Л.С.Горелкина⁴, П.Н.Коржов⁴, А.М.Казаков⁵, Ю.А.Беппаев⁵, В.Н.Шинкарева⁵, Н.Х.Пшихачев⁵, И.Г.Карнаухов¹, А.В.Топорков¹, С.А.Щербакова¹, В.В.Кутырев¹

ПОЛЕВЫЕ ИСПЫТАНИЯ МОБИЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ ЭПИДРАЗВЕДКИ И ИНДИКАЦИИ. Сообщение 1. Полевые испытания мобильной лаборатории эпидразведки и индикации на территории Саратовской области, Ставропольского края и Кабардино-Балкарской республики

¹ ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов;

² ГОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет; ³ ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт»; ⁴ ФГУЗ «Буденновское противочумное отделение Дагестанской противочумной станции», Буденновск;

⁵ ФГУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция», Нальчик

Представлены результаты полевых испытаний мобильной лаборатории в условиях различных ландшафтно-климатических зон и сезонных периодов года (весна, лето, осень, зима). Установлены тактико-технические характеристики мобильного модуля при проведении в полевых условиях индикации микроорганизмов бактериальной и вирусной природы и экспресс-диагностики опасных инфекционных болезней. Сообщение 1 содержит данные апробации мобильной лаборатории в весенне-летний период.

Ключевые слова: мобильная лаборатория, индикация, экспресс-диагностика, эпизоотологический мониторинг.

Наличие на территории Российской Федерации активных природных очагов бактериальных и вирусных инфекций, возможность заносов возбудителей особо опасных инфекций (ООИ) с эндемичных территорий на эпидемически благополучные обуславливает сохранение нестабильной ситуации не только по всем «традиционно» опасным бактериальным инфекциям – чуме, сибирской язве, холере, туляремии, вирусным болезням – клещевому энцефалиту (КЭ), Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ), лихорадке Западного Нила (ЛЗН), а также возвращающимся и вновь возникающим инфекциям, таким как тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), грипп птиц и др. [17]. В настоящее время высока вероятность использования возбудителей особо опасных инфекций (ООИ) в качестве агентов биологического оружия. Исходя из этого, разработка мер и средств оперативного реагирования на возможные биологические угрозы остается актуальной.

В рамках современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями, в целях совершенствования противоэпидемических и профилактических мероприятий в отношении особо опасных инфекций и работы в чрезвычайных ситуациях (ЧС), во исполнение постановления Главного государственного санитарного врача Г.Г.Онищенко № 21 от 05.09.2005 г. «О совершенствовании государственного санитарно-эпидемиологического надзора по противодействию угрозе биотерроризма», в 2006 г. в РосНИПЧИ «Микроб» была создана мобильная лаборатория эпидемиологической разведки и индикации на базе автомобиля повышенной проходимости «Газель» [11]. Лаборатория имеет все необходимые регистраци-

онные и разрешительные документы, позволяющие осуществлять работу с возбудителями инфекционных болезней I–IV групп патогенности:

- Санитарно-эпидемиологическое заключение Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на возможность работы с возбудителями I–IV групп патогенности (№ 77.ПЧ.01.000.М.000210.10.06 от 17.10.2006 г.);

- Санитарно-эпидемиологическое заключение Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора на соответствие санитарно-гигиеническим нормативам (№ 77.99.28.945 Д 002190.03.07 от 02.03.2007 г.);

- Регистрационное удостоверение Росздравнадзора на мобильную лабораторию как на изделие медицинской техники (№ ФС 022а2006/5427-06 от 29.12.2006 г.);

- Сертификат соответствия Госстандарта России (№ РОСС RU. ME 20.C 00358 от 30.03.2007 г.);

- Технические условия ТУ 9451-003-33249105-2006.

Разработка защищена патентом на полезную модель Федеральной службы по интеллектуальной собственности и товарным знакам № 61209 от 27.02.2007 г.

В 2007 г. во исполнение письма заместителя руководителя Роспотребнадзора Л.П.Гульченко № 0100/5863-07-26 от 06.06.2007 г. «Об экспертизе мобильной лаборатории эпидемиологической разведки и индикации на базе автомашины ГАЗ 27057» в соответствии с решением совещания у руководителя Федеральной службы по надзору в сфере за-

щиты прав потребителей и благополучия человека Г.Г.Онищенко от 04.06.2007 г. проведены полевые испытания мобильной лаборатории эпидемиологической разведки и индикации на базе автомашины ГАЗ 27057.

Целью проведения полевых испытаний явилось определение соответствия функциональных возможностей опытного образца мобильной лаборатории заявленным тактико-техническим характеристикам и производительной мощности при выполнении диагностических исследований.

В ходе экспертизы оценивали следующие параметры мобильной лаборатории:

- зависимость функциональных и технических характеристик от общего пробега автомашины (км) за время проведения испытаний,
- производительная мощность мобильной лаборатории при выполнении специфической индикации ПБА бактериальной и вирусной природы,
- обеспечение биологической безопасности при работе в мобильном модуле,
- эргономические характеристики (степень комфортности работы персонала в автолаборатории при эксплуатации в полевых условиях),
- эффективность климат-контроля: температура воздуха снаружи и в рабочей зоне автолаборатории во время ее работы (по графику),
- средний показатель расхода топлива автомашиной в ходе испытаний,
- средний показатель расхода топлива электрогенератора при работе автолаборатории.

Материалы и методы

Маршрут и сроки экспедиций

Маршруты экспедиций составлены с учетом эксплуатации автолаборатории в различных ландшафтно-климатических зонах: лесостепной, степной, полупустынной в условиях высокогорных районов. Полевые испытания проходили в различные сезонные периоды года (весна, лето, осень, зима) в течение 2007–2008 гг. на территории Южного и Приволжского Федеральных округов Российской Федерации: Александрово-Гайский район Саратовской области (29.03.2007 – 05.04.2007 гг.); Ставропольский край, Кабардино-Балкарская Республика (09.06.2007 – 08.07.2007 гг.); Астраханская область, Республика Калмыкия (12.10.2007–26.10.2007 гг.); Аткарский район Саратовской области (28.01.2008 – 02.02.2008 гг.).

Технические характеристики модуля

Лаборатория оснащена мобильной связью, обеспечивающей высокоскоростной доступ в Интернет (в том числе к электронной почте), системой навигации, автономными системами жизнеобеспечения (энергоснабжения, освещения, водоснабжения, отопления и кондиционирования), специальными средствами для отбора и доставки проб, проведения дезинфекции, оборудована бактерицидными облучателями, боксом биологической безопасности III класса,

фильтро-вентиляционной установкой, ПЦР-боксом, снабженных фильтрами тонкой очистки, необходимыми приборами для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА), метода флуоресцирующих антител (МФА).

Данные метеостанции, GPS-навигатора и другие параметры фиксировали на протяжении всего периода экспедиции.

Объекты исследования

В соответствии с разработанной для каждого этапа программой испытаний на базе мобильной лаборатории проводили исследование биологического материала (сыворотка крови больных людей, пробы органов животных и птиц, суспензии эктопаразитов), объектов окружающей среды (вода открытых водоемов, ил, почва), а также искусственно контаминированных проб на наличие возбудителей бактериальной и вирусной природы.

Сбор материала, определение вида эктопаразитов, приготовление суспензий блох, клещей и органов животных, бактериологические исследования проводили с участием специалистов ФГУЗ: Буденновского противочумного отделения Дагестанской противочумной станции, Кабардино-Балкарской, Элистинской, Астраханской противочумных станций.

Вся работа с материалом проводилась в соответствии СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» и МУ 1.3.1794-03 «Организация работы при исследовании методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I–II групп патогенности». Обеззараживание проб осуществляли в соответствии с СП 1.3.1285-03 и МУ 3.5.5.1034-01 «Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I–IV групп патогенности».

Полимеразная цепная реакция

Полимеразную цепную реакцию проводили в микропробирках объемом 0,6 или 0,2 мл на программируемых термоциклерах Терцик МС 2 («ДНК-технология», Россия) и RotorGene 3000 в соответствии с инструкцией по применению тест-систем. Детекцию возбудителей осуществляли с использованием следующих диагностических препаратов:

- ГенПест. Тест-система для выявления ДНК *Yersinia pestis* методом полимеразной цепной реакции, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- ПЦР-тест-система «Мульти-Ур» для детекции возбудителя чумы и его характеристики по генам, ассоциированным с вирулентностью (экспериментальные серии), Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- «ЧТС-ЭФ» Тест-система для одновременного выявления ДНК *Y. pestis*, *F. tularensis*, *B. anthracis* (экспериментальные серии), Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- ГенСиб. Тест-система для выявления ДНК *B. anthracis* рХОI+ методом полимеразной цепной реакции, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- «АмплиСенс® *B. anthracis* – FRT» ООО «ИнтерЛабСервис», Москва;

- ГенТул. Тест-система для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции (экспериментальные серии), Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- ГенБру. Тест-система для выявления ДНК *Brucella spp.* методом полимеразной цепной реакции, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- Ген-Хол. Тест-система для выявления ДНК *V. cholerae* (ctxA+) методом ПЦР, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- ГенКонго. Тест-система для выявления РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов;

- АмплиСенс Вирус Крымско-Конголезской геморрагической лихорадки, ООО «ИнтерЛабСервис», Москва;

- «АмплиСенс® *Influenza virus A H5/H7*», ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии», Москва;

- ГенНил. Тест-система для выявления РНК вируса Западного Нила методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, Российский НИПЧИ «Микроб», Саратов.

Метод флуоресцирующих антител

Для выявления возбудителей бактериальных инфекций мазки-отпечатки органов животных или мазки из проб объектов окружающей среды готовили на обезжиренных предметных стеклах по общепринятой методике. В работе использовали:

- «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие чумные адсорбированные лошадиные сухие, лиофилизат для диагностических целей», производства ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов;

- «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие туляремиальные сухие», производства НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва;

- «Иммуноглобулины сибирезязвенные неадсорбированные флуоресцирующие сухие» производства Предприятия по производству бактериальных препаратов НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи, Москва;

- «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные лошадиные адсорбированные сухие, лиофилизат для диагностических целей» производства ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов;

- «Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие сухие для диагностики гриппа А (H5)» производства НИИ гриппа РАМН, Санкт-Петербург.

Выявление антигенов возбудителей методом ИФА

Выявление антигенов возбудителей проводили с помощью «сэндвич»-варианта метода с использованием следующих препаратов:

- ИФА-тест-система для определения антигена вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, НИИ вирусологии РАМН, Москва;

- ИФА-тест-система для определения антигена

вируса Западного Нила, НИИ вирусологии РАМН, Москва;

- тест-система диагностическая для определения возбудителя бруцеллеза иммуноферментным методом (экспериментальная серия), Научно-производственное объединение «Пульс», НИПЧИ, Ставрополь;

- тест-система диагностическая для определения возбудителя туляремии иммуноферментным методом (экспериментальная серия), Научно-производственное объединение «Пульс», НИПЧИ, Ставрополь;

- тест-система диагностическая для определения возбудителя чумы иммуноферментным методом (экспериментальная серия), Научно-производственное объединение «Пульс», НИПЧИ, Ставрополь.

Постановку реакции и учет результатов осуществляли в соответствии с инструкцией, прилагаемой к диагностическому препарату.

Выявление антител к возбудителям методом ИФА

Выявление иммуноглобулинов класса М к вирусу ККГЛ проводили методом «capture»-варианта (методом захвата) с использованием тест-системы «ВектоКрым-КГЛ-IgM» производства ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск. Наличие антител класса G к вирусу ККГЛ определяли с помощью тест-системы «ВектоКрым-КГЛ-IgG» производства ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск.

Результаты и обсуждение

Впервые мобильная лаборатория была использована при проведении эпизоотологического мониторинга бактериальных (чумы, туляремии) и вирусных (гриппа птиц, КГЛ, ЛЗН) инфекций на юге Саратовского Заволжья в марте – апреле 2007 г.

Обследуемая территория расположена на Приузенской равнине в границах Александрово-Гайского и Новоузенского административных районов, характеризуется преобладанием полупустынных комплексов в сочетании с интразональными биотопами побережий речек, прудов и лиманов, большим разнообразием и высокой численностью мелких млекопитающих и птиц, кровососущих членистоногих [5]. Районы граничат с Казахстаном – территорией, эндемичной по чуме. В бассейнах рек Большой и Малый Узень проходят миграции перелетных околородных птиц с мест зимовок, которые могут осуществить занос возбудителей различных инфекционных болезней. Кроме того, на территории юга Саратовской области регистрируется циркуляция арбовирусов Тягиня, Инко, Батаи, Синдбис, Западного Нила (ЗН), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) [13, 21, 22], а природно-климатические условия и высокая численность популяций мигрирующих птиц водного и околородного комплексов могут способствовать также заносу вирусов гриппа птиц, в том числе и высокопатогенных штаммов.

В ходе эпизоотологического обследования стационарных участков с целью установления роли мелких млекопитающих и птиц в циркуляции возбудителей зоонозов в природных условиях этой зоны для работы в мобильной лаборатории были добыты 31 птица 18 видов и 39 животных 3 видов. В соответствии с разработанным алгоритмом комплексного исследования полевого материала на наличие возбудителей природно-очаговых бактериальных и вирусных инфекций были приготовлены мазки-отпечатки и суспензии органов птиц и мелких млекопитающих, пробы объектов окружающей среды (ил, вода открытых водоемов).

Вскрытие грызунов, предварительную подготовку проб осуществляли в боксе биологической безопасности III класса. Для приготовления суспензий органов использовали одноразовую лабораторную посуду (чашки Петри, микропробирки, наконечники с фильтром). Ткани измельчали ножницами, вносили 0,9 % раствор натрия хлорида и перемешивали. Подготовленную суспензию отбирали с помощью автоматической пипетки и делили на аликвоты. Использованные наконечники, остатки проб в чашках Петри помещали в полиэтиленовый пакет с застежкой для дальнейшей утилизации.

Концентрирование проб воды из открытых источников для исследования на наличие бактериальных инфекций осуществляли центрифугированием при 9000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость сливали в емкость с дезинфицирующим средством, осадок ресуспендировали в 0,9 % растворе натрия хлорида. После завершения этапа концентрирования центрифужные пробирки погружали в емкость с дезинфицирующим средством для обеззараживания.

Подготовку проб ила (перевод в жидкую фазу) также осуществляли в боксе биологической безопасности с использованием одноразовых контейнеров, которые после завершения работы утилизировали.

Следует отметить, что использование фильтровентиляционной установки, снабженной фильтрами тонкой очистки, и современных средств индивидуальной защиты обеспечивает в ряде случаев возможность проведения всех этапов анализа без использования бокса биологической безопасности.

Всего в мобильной лаборатории в течение 6 дней подготовлено к исследованию и протестировано 179 образцов на наличие антигенов или нуклеиновых кислот возбудителей чумы и туляремии, вирусов ЗН и ККГЛ, гриппа птиц типа А.

Для выявления маркеров *F. tularensis* и *Y. pestis* с использованием МФА, ИФА и ПЦР исследовано 39 проб биологического материала от мелких млекопитающих (мазки-отпечатки и суспензии печени и селезенки), 6 проб воды открытых водоемов, 6 проб ила. Ни в одном случае положительных результатов реакций не зарегистрировано.

При исследовании 31 образца головного мозга птиц и мазков из клоаки с целью выявления РНК ви-

руса гриппа А методом ПЦР получены отрицательные результаты. Эти данные были подтверждены при исследовании мазков-отпечатков трахей этих же птиц с использованием МФА.

На наличие антигенов и РНК вирусов ЗН и ККГЛ с помощью ИФА и ПЦР-анализа протестировано 39 проб суспензий мозга мелких млекопитающих и 31 проба суспензий мозга птиц. Возбудители ЛЗН и КГЛ в исследуемом материале нами не обнаружены. Представленные данные расходятся с результатами исследований, полученными ранее при проведении обследования этой территории, когда антигены вирусов ЗН и ККГЛ неоднократно обнаруживали в органах грызунов [3, 14], однако совпадение результатов комплекса методов, направленных на выявление как антигенов, так и генетических маркеров возбудителей, подтверждает достоверность ответа, а отсутствие положительных находок, возможно, свидетельствует о недостаточном количестве исследованных проб.

Среднесуточная температура воздуха в период полевых испытаний составила 8–10 °С. Ночью температура снижалась до 5–8 °С. В отдельные дни утром отмечались заморозки. В дневной период температура повышалась до 16–18 °С. Для достижения комфортной температуры в рабочей зоне лаборатории перед началом работы и при необходимости в ходе проведения исследований был задействован автономный автомобильный отопитель, который поддерживал температуру внутри модуля на уровне 20–24 °С. Расход топлива на его работу в среднем составил 0,3 л/ч. Время, в течение которого помещение прогревалось до необходимой температуры, варьировало в зависимости от температуры окружающей среды (до 30 мин при температуре близкой к 0 °С). Несомненным достоинством электронагревателя является наличие у него нескольких программ и функции автоматического регулирования температуры, что исключает необходимость сотруднику контролировать этот процесс постоянно.

Анализ результатов первой апробации мобильной лаборатории в полевых условиях на территории Саратовского Заволжья в весенний период показал:

- техническое оснащение модуля обеспечивает возможность проведения диагностических исследований в автономном режиме и создает достаточно комфортные условия работы для персонала;

- использование современного оборудования для постановки МФА, ИФА, ПЦР и комплексный подход при исследовании материала на наличие возбудителей бактериальных и вирусных инфекций позволяет получать быстрый и достоверный результат специфической индикации;

- использование бокса биологической безопасности III класса на этапе подготовки и обеззараживания проб и защитной одежды при выделении ДНК, постановке МФА, ИФА и ПЦР обеспечивает соблюдение требований биологической безопасности в ходе проведения исследований. Применение одноразовой лабораторной посуды и расходных матери-

алов (чашки Петри, микропробирки и т.д.) для постановки тестов и приготовления суспензий органов животных и птиц позволяет выполнять необходимые условия биологической безопасности при утилизации отходов.

В летний период с 09 июня по 08 июля 2007 г. полевые испытания мобильной лаборатории проведены на территории Ставропольского края и Кабардино-Балкарской Республики. Испытания проходили в различных ландшафтно-климатических зонах и включали несколько этапов: 09.06 – 12.06.07 г., 30.06 – 01.07.07 г. и 06.07 – 08.07.07 г. – в г. Ставрополь; 12.06 – 15.06.07 г. – в г. Благодарный (Благодарненский район); 15.06 – 24.06.07 г. – в г. Буденновске (Буденновский и Нефтекумский районы); 24.06 – 30.06.07 г. – в п. Былым (Кабардино-Балкарская Республика); 01.07 – 06.07.07 г. – в с. Красногвардейское (Красногвардейский район);

В экспертных испытаниях непосредственное участие принимали сотрудники ФГУЗ «Ставропольский НИПЧИ», которые были ознакомлены с функциональным назначением, устройством и техническими особенностями мобильной лаборатории, правилами работы в модуле.

На первом этапе работы в Ставрополе (10.07.07 – 11.07.07 г.) в мобильную лабораторию поступил клинический материал (сыворотка крови) от больной с подозрением на КГЛ и 39 контактных, доставленный из Республики Ингушетия. Через 6 ч методом ПЦР у больной подтвержден клинический диагноз КГЛ. У четырех человек из очага инфекции методом ИФА обнаружены антитела к вирусу ККГЛ. Ни в одном случае РНК возбудителя в сыворотке крови контактных не выявлена.

Подготовку проб, выделение РНК, постановку реакции обратной транскрипции осуществляли в боксе биологической безопасности III класса. Внесение кДНК в пробирки с реакционной смесью для ПЦР проводили в ПЦР-боксе при включенной вентиляции. После окончания анализа материал, подлежащий обеззараживанию, автоклавировали на базе Ставропольского института.

При проведении исследований энергоснабжение оборудования и приборов лаборатории обеспечивали электрогенератором. Время его работы при максимальной нагрузке составило 3 ч 15 мин. Дозаправка генератора топливом предусматривает его остановку, что является недопустимым на определенных этапах исследования. Поэтому в дальнейшем генератор использовали в тех случаях, когда выполнялись процедуры, не требующие бесперебойного энергообеспечения.

Второй этап испытаний проходил в г. Благодарном в зоне умеренного климата, где в мобильной лаборатории в автономном режиме проводили тестирование:

- зашифрованных проб, содержащих образцы, искусственно контаминированные вакцинными штаммами *Y. pestis* (40 проб), *F. tularensis* (40) и ДНК *B. anthracis* (20) с использованием МФА и/или ПЦР;

- биологического материала: сыворотки крови крупного рогатого скота (25 проб) и мелкого рогатого скота (75) на наличие возбудителя бруцеллеза и КГЛ методами ИФА и/или ПЦР;

- проб воды открытых водоемов (12 проб) на наличие возбудителя холеры методами МФА и ПЦР.

Положительные результаты зафиксированы лишь при тестировании проб, искусственно контаминированных различными микроорганизмами: выявлены 3 пробы *Y. pestis*, 2 – *F. tularensis*, 20 – *B. anthracis*. Полученные результаты совпали с данными шифрования проб в 100 % случаев.

Для осуществления мониторинга КГЛ в Благодарненском районе собрано на флаг и с крупного рогатого скота 298 клещей (*Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Boophilus annulatus*) и произведен отстрел 14 птиц (10 грачей, 2 сороки, 2 вороны).

В 2005 г. в сыворотке крови грачей, добытых на территории этого района, были выявлены антитела класса IgG к вирусу ККГЛ, что позволило сделать предположение о возможной циркуляции вируса среди птиц этого вида. Кроме того, антитела к вирусу ККГЛ обнаружены в материале от мышевидных грызунов [7].

При исследовании материала от птиц, отстреленных в период экспедиции, РНК вируса ККГЛ не выявлена. Осмотр птиц показал отсутствие на них клещей *Hyalomma marginatum* в преимагинальных стадиях развития.

В одной пробе клещей *Hyalomma marginatum*, снятых с частного скота (Благодарненский район, с. Бурлацкое), методом ИФА обнаружен антиген вируса ККГЛ. При исследовании этого образца в ПЦР получен отрицательный результат. Определенная ранее вирусофорность клещей по Благодарненскому району составляет 2,8 % [4].

Среднедневная температура воздуха в период работы автолаборатории в г. Благодарный составила 28–30 °С, при этом в рабочей зоне лаборатории она не превышала 24 °С.

Для проведения следующего этапа испытаний были определены Буденновский и Нефтекумский районы Ставропольского края. Территория, курируемая Буденновским ПЧО Дагестанской ПЧС, является эндемичной по чуме и туляремии [1, 12, 14]. Кроме того, в Буденновском районе неоднократно регистрировались заболевания людей сибирской язвой, в Нефтекумском районе имели место случаи заражения людей вирусом ККГЛ [4].

В Буденновском районе (с. Архангельское и с. Орловка) добыто 402 грызуна, в Нефтекумском районе (с. Каясула) – 30 грызунов и 16 птиц. Вскрытие животных и птиц, приготовление мазков-отпечатков, суспензий органов, а также суспензий блох проводили в заражном блоке Буденновского ПЧО. После предварительной обработки материал передавали в мобильную лабораторию для исследования.

Индикацию возбудителей чумы и туляремии

проводили с использованием МФА, ИФА и ПЦР. Для выявления маркеров вирусов ККГЛ и ЗН применяли ИФА и ПЦР. В материале от грызунов и птиц антигены, детектируемых бактерий или вирусов, их ДНК или РНК не обнаружены.

15.06.07 г. из инфекционного отделения Буденовской, а 21.06.07 г. из Нефтекумской больницы доставлены 4 пробы биологического материала от больных с лихорадкой неясной этиологии (кровь, сыворотка крови). Образцы исследовали на наличие РНК вируса ККГЛ и антител к нему (IgM). Ни у одного больного маркеры вируса не выявлены. Результаты исследований в тот же день в оперативном порядке были переданы в районные больницы. Все этапы анализа (предварительную подготовку проб, выделение РНК, проведение обратной транскрипции и ПЦР, сенсбилизацию планшетов и постановку ИФА) выполняли в мобильной лаборатории в боксе биологической безопасности III класса.

В период испытаний на базе мобильной лаборатории на наличие возбудителя холеры проведены исследования проб воды открытых водоемов (20 проб), взятых на стационарных точках Буденовска (оз. Свепелуха, Буйвола, р. Кума, очистные сооружения), и проб I и II пептонной воды, полученных из бактериологической лаборатории Буденовского ПЧО. Результаты ПЦР, МФА и, в последующем, бактериологического анализа были отрицательными.

Отрицательные результаты ПЦР получены и при исследовании проб почвы на наличие возбудителя сибирской язвы (20 проб) из очага инфекции в месте вынужденного забоя животного в 1963 г. на частном подворье. Для постановки ПЦР использовали тест-системы «ГенСиб» (с электрофоретическим учетом результатов ПЦР) и «АмплиСенс® *B. anthracis* – FRT» (с учетом результатов гибридизационно-флуоресцентным методом в режиме реального времени – РВ-ПЦР) производства ЦНИИ эпидемиологии. Результаты РВ-ПЦР получены через 40 мин после начала амплификации и были подтверждены по завершению электрофореза при использовании стандартной процедуры ПЦР через 2 ч.

По просьбе заведующего бактериологической лабораторией Буденовского противочумного отделения проведена идентификация методом ПЦР 4 культур, выделенных ранее от клещей, которые по ряду дифференциальных признаков могли быть отнесены к *F. tularensis* (специфическое окрашивание люминесцирующими иммуноглобулинами на 3+, агглютинация с туляремийной сывороткой, гибель биопробных мышей на 2-е сутки). При использовании двух экспериментальных ПЦР-тест-систем («ГенТул» – для выявления ДНК *F. tularensis* и «ЧТС-ЭФ» – для одновременного выявления ДНК *Y. pestis*, *F. tularensis*, *B. anthracis*) образования специфических для возбудителя туляремии фрагментов ДНК не наблюдали.

Буденовский и Нефтекумский районы расположены в засушливой зоне Ставропольского края с жарким климатом. Максимальная дневная темпе-

ратура воздуха в период проведения испытаний составила 39,5 °С. Работа кондиционера поддерживала комфортную температуру в рабочей зоне лаборатории (23–26 °С).

Следующим этапом стало проведение испытаний мобильной лаборатории в условиях высокогорных районов Кабардино-Балкарской Республики п. Былым (высота над уровнем моря 1230 м) на территории Центрально-Кавказского природного очага чумы. В мобильном модуле исследовали полевой биологический материал: суспензии органов горных сусликов (110), суспензии блох с сусликов, из гнезд и нор (1489). Грызуны и блохи добыты на пяти точках (Эльбрусский район: ур. Перк, Кююлюм, Курбаши, Кыр, Комсомольское озеро).

Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы характеризуется постоянной эпизоотической активностью [15, 16, 18]. В предыдущем году (2006 г.) на территории очага выделено 6 штаммов чумного микроба от блох *Citellophilus tesquorum* (два с очеса горного суслика и три из входов нор) и *Stenophthalmus orientalis* (один штамм из входов нор). Эпизоотия зарегистрирована в ур. Перк, Эльбрусского района [18].

Предварительную подготовку проб осуществляли на базе лаборатории Былымского эпидотряда. Выделение ДНК, индикацию возбудителя чумы с использованием ПЦР и ИФА проводили в мобильной лаборатории.

В двух пробах блох (*Cit. tesquorum*), с очеса горного суслика и из входов нор, выявлена ДНК возбудителя чумы (01442, ур. Перк аз. 232–235°, 9 км от п. Былым, горная степь). В одном случае (суспензия блох, с очеса горного суслика) положительный результат ПЦР подтвержден бактериологическим методом. Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием двух диагностических препаратов: сертифицированной тест-системы «ГенПест» и экспериментальной «Мульти-Ур» для детекции возбудителя чумы и его характеристики по генам, ассоциированным с вирулентностью (гены *irp2* (хромосомный остров патогенности) и *lcrV* (плазмида pCad), а также видоспецифичный для *Y. pestis* хромосомный локус *3a*). В ПЦР с тест-системой «Мульти-Ур» наблюдали амплификацию специфических фрагментов всех трех ДНК-мишеней возбудителя, что позволило сделать предварительное заключение о его вирулентности.

В ходе проведения исследований среднесуточная температура воздуха в п. Былым не превышала 19 °С, поэтому кондиционер при работе в лаборатории в этот период не эксплуатировали.

По возвращении в Ставрополь в мобильной лаборатории проведено тестирование зашифрованных проб, содержащих образцы, искусственно контаминированные вакцинными штаммами *Y. pestis* и *F. tularensis*, методами ИФА, ПЦР и МФА и проб биологического материала (испражнения, I и II пептонная вода), контаминированных *V. cholera*, методами ПЦР и МФА. Выявлены антигены и ДНК *Y. pestis*

в 9 пробах, *F. tularensis* – в 12 и *V. cholerae* – в 12. Результаты совпали с данными шифрования проб в 100 % случаев.

Среднедневная температура воздуха в период работы автолаборатории в Ставрополе составила 25–27 °С, при этом в рабочей зоне лаборатории она не превышала 22 °С.

Ставропольский край относится к числу территорий, неблагоприятных по лептоспирозу, где сформировались как природные, так и антропогенные очаги этой инфекции [12, 20]. Наиболее сложная обстановка сложилась в Красногвардейском районе края, в котором дважды в 2001 и 2005 гг. имели место вспышки лептоспироза [10]. Для проведения мониторинга этой инфекции мобильная лаборатория была развернута в п. Коммунар Красногвардейского района Ставропольского края. Материалом для исследования служила вода р. Егорлык.

Специфическую сепарацию возбудителя лептоспироза осуществляли на поверхности магнитоносителей (МИС) в магнитном поле ловушек, закрепленных в корпусе плавающих установок, обеспечивающих проточность жидкости в течение длительного времени. Плот с ловушками устанавливали на мелководье в местах водопоя животных, купания и отдыха людей. Кроме того, воду исследовали на наличие возбудителей туляремии и гриппа птиц, для чего использовали соответствующие иммуносорбенты. Положительным контролем служили пробы, искусственно контаминированные антигенами искомого возбудителя. Детекцию микроорганизмов осуществляли методом ИФА и/или ПЦР.

В работе использовали экспериментальные серии комплектов реагентов производства Ставропольского НИПЧИ для выявления методом ИФА с использованием МИС возбудителей лептоспироза, туляремии и гриппа птиц, ПЦР-тест-системы «Амплиценс *Influenza virus A H5N1-FRT*» и «Амплиценс *Influenza virus A H5/H7*» для детекции РНК вируса гриппа птиц производства ЦНИИ эпидемиологии, тест-систему для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции производства РосНИПЧИ «Микроб». Положительные результаты получены только при тестировании искусственно контаминированных проб.

Таким образом, в ходе проведения испытаний мобильной лаборатории на территории Ставропольского края и Кабардино-Балкарской Республики в летний период установлено следующее:

Тактико-технические характеристики лаборатории

Мобильная лаборатория, оборудованная на базе полноприводного автомобиля ГАЗ 27057, может эксплуатироваться как на асфальтовых, так и грунтовых дорогах. Средний расход топлива автомобилем на 100 км составил 18 л. Общий пробег автомашины – 3166 км.

Мобильная лаборатория оснащена бензиновым электрогенератором, что позволяет работать в авто-

номных условиях при отсутствии внешнего источника питания. Расход топлива на работу электрогенератора при максимальной нагрузке составляет 3 л/ч. Время непрерывной работы генератора – 3 ч. В период экспедиции оборудование, а также все системы функционировали бесперебойно и обеспечивали комфортные условия для работы персонала. Средняя температура воздуха в лаборатории составляла 20–25 °С, расход топлива на работу кондиционера – 2 л/ч.

Обеспечение режима биологической безопасности при работе с исследуемым материалом

При проведении индикации и экспресс-диагностики особо опасных инфекций использование бактерицидных облучателей, бокса биологической безопасности III класса, а также наличие вентиляционной установки, снабженной фильтрами тонкой очистки, позволяет обеспечить необходимый уровень биологической безопасности работ для персонала и окружающей среды.

Производительная мощность мобильной лаборатории

Приборное оснащение автолаборатории позволяет проводить в полевых условиях лабораторные исследования с целью индикации микроорганизмов бактериальной и вирусной природы в воде, почве, биологических материалах от больных людей и животных с использованием методов специфической индикации ПБА.

Всего в ходе испытаний проведено более 5000 исследований, включая тестирование шифрованных образцов. В полевом (клиническом) материале и шифрованных пробах выявлены антигены, ДНК/кДНК следующих возбудителей: *Y. pestis* – 2 и 12 соответственно, *F. tularensis* – 0 и 36, *V. cholerae* – 0 и 12, *B. anthracis* – 0 и 20, лептоспироза – 0 и 9, гриппа птиц – 0 и 9, КГЛ – 6 и 0. Совпадение полученных результатов с данными шифрования проб – 100 %. Максимальная производительность лаборатории с использованием указанных методов составила 540 исследований/сут, средняя – 250 исследований/сут.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Асваров Б.М., Газиев С.Г., Омарова Б.К. Эпизоотологическая обстановка в очагах Восточного Предкавказья. В кн.: Акт. вопр. особо опасных инф.: Матер. регион. науч.-практ. конф. Нальчик, 2000. С. 16–9.
2. Бейер А.П., Малецкая О.В., Чумакова И.В. и др. Анализ заболеваемости Крымской геморрагической лихорадкой в Южном Федеральном Округе в 2006 г. В кн.: Современные аспекты эпидемиологического надзора за особо опасными инфекционными заболеваниями на юге России: Матер. науч.-практ. конф.; 21–22 марта 2007 г.; Ставрополь. Ставрополь; 2007. Ч. I. С. 32–5.
3. Билько Е.А., Щербакова С.А., Красовская Т.Ю. и др. Результаты лабораторных исследований по выявлению антигенов арбовирусов из полевого материала, собранного в Александрово-Гайском районе в 2006–2007 гг. В кн.: Международные медицинские правила и реализация глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями в государствах-участниках СНГ: Матер. VIII Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ; 25–26 сент. 2007 г.; Саратов. Саратов; 2007. С. 20–2.
4. Василенко Н.Ф., Грядских Д.А., Афанасьева Е.Е. и др. Инфицированность исходных клещей вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки в природном очаге Ставропольского края. В кн.: Акт. вопр. эпидемиол. инф. бол.: Сб. науч. тр. М.;

2006. Вып. 8. С. 309–14.

5. Демин А.М., Макарецва Л.В., Уставщикова С.В. География Саратовской области. Саратов: «Лицей»; 2005. 336 с.

6. Евченко Ю.М., Самарина И.В., Грижебовский Г.М. и др. Лептоспироз в Ставропольском крае (проблемы перспективы). В кн.: Акт. вопр. эпидемиол. инф. бол.: Сб. науч. тр. М.; 2006. Вып. 8. С. 306–9.

7. Емельянова И.Н., Василенко Н.Ф., Шапошникова Л.И. и др. Участие млекопитающих и птиц в циркуляции вируса ККГЛ в Ставропольском крае. В кн.: Совр. асп. эпидемиол. надзора за особо опасными инф. забол. на юге России: Матер. науч.-практ. конф.; 21–22 марта 2007 г.; Ставрополь. Ставрополь; 2007. Ч. I. С. 116–8.

8. Зайцев А.А., Тихенко Н.И., Левченко Б.И. и др. Эпидемиологическая и эпизоотологическая обстановка по туляремии на территории Центрального Предкавказья. В кн.: Совр. асп. эпидемиол. надзора за особо опасными инф. забол. на юге России: Матер. науч.-практ. конф.; 21–22 марта 2007 г.; Ставрополь. Ставрополь; 2007. Ч. I. С. 147–50.

9. Ковалев Н.Г., Ковальчук И.В., Балабан О.А. и др. О ситуации по лептоспирозу в Красногвардейском районе Ставропольского края. В кн.: Совр. асп. эпидемиол. надзора за особо опасными инф. забол. на юге России: Матер. науч.-практ. конф.; 21–22 марта 2007 г.; Ставрополь. Ставрополь; 2007. Ч. I. С. 182–5.

10. Ковалев Н.Г., Балабан О.А., Ковальчук И.К. и др. Об эпизоотологической обстановке по лептоспирозу в Ставропольском крае. В кн.: Матер. VIII съезда Всероссийского об-ва эпидемиол. микробиол. и паразитол. М.; 2002. С. 337–8.

11. Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г. Применение мобильных лабораторий для противозидемического обеспечения населения в условиях чрезвычайных ситуаций. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):27–9.

12. Левченко Б.И., Тихенко Н.И., Лямкин Г.И. и др. Эпидемиологические особенности туляремии в природном очаге степного типа на территории Ставропольского края. В кн.: Акт. вопр. эпидемиол. инф. бол.: Сб. науч. тр. М.; 2006. Вып. 8. С. 275–9.

13. Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Красовская Т.Ю. и др. Результаты эпизоотологического мониторинга по зоонозам в южной части Саратовского Заволжья. В кн.: Международные медико-санитарные правила и реализация глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями в государствах-участниках СНГ: Матер. VIII Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ; 25–26 сент. 2007 г.; Саратов. Саратов; 2007. С. 81–3.

14. Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Красовская Т.Ю. и др. Результаты эколого-эпизоотологического обследования в природных очагах зоонозов в левобережье Саратовской области. В кн.: Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий: Матер. II Междунар. науч. конф.; 15–16 ноября 2007 г. Нижний Новгород; 2007. С. 172–6.

15. Мезенцев В.М., Грижебовский Г.М., Бейер А.П. и др. Анализ эффективности приемов эпизоотологического обследования Центрально-Кавказского очага чумы в 1988–1998 гг. Пробл. особо опасных инф. 2000; 80:57–61.

16. Мезенцев В.М., Грижебовский Г.М., Бейер А.П. и др. Результаты эпизоотологического обследования очагов чумы на Северном Кавказе. В кн.: Акт. вопр. особо опасных инф. Матер. регион. науч.-практ. конф. Нальчик; 2000. С. 8–9.

17. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д. и др. Санитарная охрана территории Российской Федерации: современное нормативно-методическое, организационное и научное обеспечение. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):5–11.

18. Попов Н.В., Бессмертный В.Е., Новиков Н.Л. и др. Современное состояние и прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2007 г. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):11–6.

19. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.; 2004. 192 с.

20. Самарина И.В., Мезенцев В.М., Евченко Ю.М. и др. Особенности лептоспироза в Ставропольском крае на современном этапе. В кн.: Акт. вопр. эпидемиол. инф. болезней: Сб. науч. тр. М.; 2006. Вып. 8. С. 289–92.

21. Щербакова С.А., Билько Е.А., Клюева Е.В. и др. Экология распространения арбовирусов на территории Саратовской области. Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 5:27–30.

22. Щербакова С.А. Распространение и экология виру-

сов Батаи, Тягиня и Инко (семейство *Bunyaviridae*) в Нижнем Поволжье [дис. ... канд. биол. наук]. Саратов, 1996.

Об авторах:

Шарова И.Н., Куклев В.Е., Красовская Т.Ю., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Шилов М.М., Яковлев С.А., Карнаухов И.Г., Топорков А.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

Кутырев И.В. Саратовский государственный медицинский университет. 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112.

Куличенко А.Н., Ефременко В.И., Тихенко Н.И., Жданова Е.В., Цыганкова Е.А., Жарникова И.В., Бабий А.М. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. Тел.: (8652) 26-03-12. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Сурхаев Д.Б., Бредгауер Л.А., Горелкина Л.С., Коржов П.Н. Буденновское противочумное отделение Дагестанской противочумной станции. Ставропольский край, Буденновск.

Казakov А.М., Беппаев Ю.А., Шинкарева В.Н., Пшихачев Н.Х. Кабардино-Балкарская противочумная станция. Кабардино-Балкарская Республика, 360017, Нальчик, ул. Байсултанова, 35. E-mail: kbpchs@kbrnet.ru

I.N.Sharova, I.V.Kutyrev, V.E.Kouklev, T.Yu.Krasovskaya, V.N.Chekashov, A.N.Matrosov, M.M.Shilov, S.A.Yakovlev, A.N.Kulichenko, V.I.Efremenko, N.I.Tikhenko, E.V.Zhdanova, E.A.Tsygankova, I.V.Zharnikova, A.M.Babiy, D.B.Surkhaev, L.A.Bredgauer, L.S.Gorelkina, P.N.Korzov, A.M.Kazakov, Yu.A.Beppaev, V.N.Shinkareva, N.Kh.Pshikhachev, I.G.Karnaukhov, A.V.Toporkov, S.A.Scherbakova, V.V.Kutyrev

Field Trial of Mobile Laboratory for Epidemiologic Survey and Indication.

Communication I. Field Trial of Mobile Laboratory for Epidemiologic Survey and Indication in the Territory of Saratov Region, Stavropol Region and Kabardino-Balkaria Republic

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov; Saratov State Medical University; Stavropol Anti-Plague Research Institute; Budennovsk Anti-Plague Department of Dagestan Plague-Control Station; Kabardino-Balkaria Plague-Control Station, Nalchik

Presented are the results of the field trial of the mobile laboratory in different landscape and climatic zones and seasons (spring, summer, autumn, winter). Determined are performance characteristics of the mobile module while carrying out indication of bacterial and viral nature germs and express-diagnostics of dangerous infectious diseases in field conditions. Communication I contains data on approbation of the mobile laboratory in spring-summer period.

Key words: mobile laboratory, indication, express-diagnostics, epizootiological monitoring.

Authors:

Sharova I.N., Kouklev V.E., Krasovskaya T.Yu., Chekashov V.N., Matrosov A.N., M.M.Shilov, Yakovlev S.A., Karnaukhov I.G., Toporkov A.V., Scherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Kutyrev I.V. Saratov State Medical University. 410012, Saratov, B. Kazach'a St., 112.

Kulichenko A.N., Efremenko V.I., Tikhenko N.I., Zhdanova E.V., Tsygankova E.A., Zharnikova I.V., Babiy A.M. Stavropol Anti-Plague Research Institute. 355035, Stavropol, Sovetskaya St., 13–15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Surkhaev D.B., Bredgauer L.A., Gorelkina L.S., Korzhov P.N. Budennovsk Anti-Plague Department of Dagestan Plague-Control Station. Stavropol Region, Budennovsk.

Kazakov A.M., Beppaev Yu.A., Shinkareva V.N., Pshikhachev N.Kh. Kabardino-Balkaria Plague-Control Station. Kabardino-Balkaria Republic, 360017, Nalchik, Baysultanova St., 35. E-mail: kbpchs@kbrnet.ru

Поступила 20.03.09.