

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в 1968 году

Главный редактор член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук, профессор **В.В.Кутырев**

*Журнал входит в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций
на соискание ученой степени доктора и кандидата наук*

Выпуск 100

2 · 2009

САРАТОВ

Адрес редакции:

410005, Саратов,
ул. Университетская, 46
Тел. (845-2) 51-82-22
Факс (845-2) 51-52-12
E-mail: microbe@san.ru
www.microbe.ru

Зав. редакцией Л.С.Пронина

Тел. (845-2) 51-82-22

Редактор *Л.С.Пронина*

Технический редактор
Т.К.Меркулова

Перевод на английский
Т.Б.Каравасовой
А.Ю.Мощиной

Подписано в печать 01.06.09

Формат 60×88 1/8

Бумага офсетная

Печать офсетная

Усл. печ. л. 9,5

Гарнитура Таймс

Заказ 561

Подписной индекс – 24687

ISSN 0370-1069. Пробл. особо
опасных инф. 2009. Вып. 100. 1–76

Журнал отпечатан
в ООО «ИППОЛит-XXI век»
410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

ISSN 0370-1069



9 770370 106008 >

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

З.Л.Девдариани, докт. мед. наук, профессор,
Г.А.Ерошенко, докт. биол. наук,
Т.Б.Каравасова (отв. секретарь), канд. мед. наук,
Е.В.Куклев, докт. мед. наук, профессор,
М.Н.Ляпин, канд. мед. наук,
Н.В.Попов, докт. биол. наук, профессор,
Ю.А.Попов, докт. биол. наук, профессор,
Л.В.Самойлова, докт. мед. наук, профессор,
Л.В.Саяпина, докт. мед. наук,
Н.И.Смирнова, докт. биол. наук, профессор,
Т.М.Тараненко, докт. биол. наук, профессор,
В.П.Топорков, докт. мед. наук,
Т.Н.Щуковская, докт. мед. наук

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

В.В.Алексеев, докт. мед. наук, профессор (Волгоград),
В.Е.Безсмертный, канд. мед. наук (Москва),
И.В.Борисевич, докт. мед. наук (Киров),
А.Л.Гинцбург, докт. мед. наук, академик РАМН (Москва),
И.Г.Дроздов, докт. мед. наук, профессор (Кольцово),
И.А.Дятлов, докт. мед. наук, профессор (Оболensk),
А.Н.Куличенко, докт. мед. наук, профессор (Ставрополь),
В.В.Кутырев, докт. мед. наук, член-корр. РАМН (Саратов),
Ю.М.Ломов, докт. мед. наук, профессор (Ростов-на-Дону),
Д.К.Львов, докт. мед. наук, академик РАМН (Москва),
В.П.Бондарев, докт. мед. наук (Сергиев Посад),
В.В.Малеев, докт. мед. наук, академик РАМН (Москва),
В.П.Сергиев, докт. мед. наук, академик РАМН (Москва),
Ю.М.Федоров, докт. мед. наук (Москва)

*Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ.
Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной
справочной системе по периодическим и продолжающимся
изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»*

*Электронные версии статей размещены на сайте Научной
электронной библиотеки (www.e-library.ru)*

© Федеральное государственное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2009

**Problemy
osobo opasnyh infekcij**

ISSN 0370-1069

**Problems
of Particularly Dangerous Infections**

Топорков А.В., Топорков В.П., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения как унифицированный объект надзора и оперативного реагирования в рамках современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями.....

5

Эпидемиология, биобезопасность

Безсмертный В.Е., Попов В.П., Жуков В.И., Иванова С.М. Обзор эпизоотической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации во втором полугодии 2008 г. и прогноз на первое полугодие 2009 г.

11

Картоев А.А., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Варфоломеева Н.Г., Орлова Т.Н., Исмаилова Г.К., Григорьев М.П., Комурзов Б.Д., Куличенко А.Н. Изучение природной очаговости крымской геморрагической лихорадки в Республике Ингушетия

14

Малюкова Т.А., Лоцманова Е.Ю., Бойко А.В., Тихомирова Л.А., Растунцева Е.В., Юсупова З.С., Сазанова Е.В. Профессионально важные качества персонала, допускаемого к работам с ПБА I–II групп .

17

Самыгин В.М., Гришкина Т.А., Жога Л.К., Александров А.Ю., Редкозубов С.В., Нгуен Тхи Нгок Минь. Система защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей в установках для культивирования микроорганизмов

22

Сахно Н.В. Функциональная система «лизоцим-антилизоцим» во взаимоотношениях организма блох и возбудителя чумы.....

27

Шарова И.Н., Кутырев И.В., Куклев В.Е., Красовская Т.Ю., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Шилов М.М., Яковлев С.А., Куличенко А.Н., Ефременко В.И., Тихенко Н.И., Е.В.Жданова, Цыганкова Е.А., Жарникова И.В., Бабий А.М., Сурхаев Д.Б., Бредгауер Л.А., Горелкина Л.С., Коржов П.Н., Казаков А.М., Беппаев Ю.А., Шинкарева В.Н., Пшихачев Н.Х., Карнаухов И.Г., Топорков А.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. 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

30

Шиянова А.Е., Топорков В.П., Дмитриева Л.Н., Кабаев С.Ю. Правовые основы санитарно-эпидемиологических правил «Санитарная охрана территории Российской Федерации» (2008 г.) (материалы к Разделам I–IV СП 3.4.2318-08)

38

Toporkov A.V., Toporkov V.P., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. Emergency Situation in the Sphere of Population Sanitary and Epidemiologic Welfare as Unified Object of Surveillance and Active Response in the Scope of Up-To-Date Strategy of Infectious Diseases Control

Epidemiology, Biosafety

Bezsmertny V.E., Popov V.P., Zhukov V.I., Ivanova S.M. Review of Tularemia Epizootic Situation in the Russian Federation Territory in the Second Half of 2008 and Prognosis for the First Half of 2009

Kartoev A.A., Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Varfolomeeva N.G., Orlova T.N., Ismailova G.K., Grigor'eva M.P., Komurzoev B.D., Kulichenko A.N. Studying of Crimean Hemorrhagic Fever Natural Focality in the Republic of Ingushetia

Malyukova T.A., Sazanova E.V., Kostyukova T.A., Golovko E.M., Boiko A.V. Selection and Disinfection of Adsorbents Used for Transportation of Pathogenic Biological Agents

Samygin V.M., Grishkina T.A., Zhoga L.K., Alexandrov A.Yu., Redkozubov S.V., Nguen Tkhi Ngok Min. System of Environmental Protection from Bacterial Aerosols in Propagators for Microorganisms Cultivation

Sakhno N.V. Functional System of “Lysozyme and Anti-Lysozyme” in Plague Agent and Flea Organism Interrelations

Sharova I.N., Kutyrev I.V., Kouklev V.E., Krasovskaya T.Yu., Chekashov V.N., Matrosov A.N., M.M.Shilov, Yakovlev S.A., Kulichenko A.N., Efremenko V.I., Tikhenko N.I., Zhdanova E.V., Tsygankova E.A., Zharnikova I.V., Babiya A.M., Bredgauer L.A., Gorelkina L.S., Korzhov P.N., Bepaev Yu.A., Shinkareva V.N., Pshikhachev N.Kh., Kazakov A.M., Karnaukhov I.G., Toporkov A.V., Scherbakova S.A., Kutyrev V.V. Field Trial of Mobile Laboratory for Epidemiologic Survey and Indication. Communication 1. Field Trial of Mobile Laboratory for Epidemiologic Survey and Indication in the Territory of Saratov Region, Stavropol Region and Kabardino-Balkaria Republic

Shiyanova A.E., Toporkov V.P., Dmitrieva L.N., Kabaev S.Yu. Legal Basis of Sanitary and Epidemiologic Regulations “Sanitary Protection of the Russian Federation Territory” (2008) (Materials for Issues I–IV SR 3.4.2318-08)

Микробиология

Кузнецова Е.М., Шепелёв И.А., Волох О.А.
Структурно-функциональная характеристика основ-
ных антигенов *Francisella tularensis* 44

Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В.
Сравнительный анализ структуры гена *inv* у штаммов
чумного и псевдотуберкулезного микробов 50

Иммунология, патогенез

Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Кутырев В.В.
О патогенетической взаимосвязи недостаточности
антирадикальной защиты эритроцитов и нарушений
реологических свойств крови при бактериальном эн-
дотоксикозе 53

Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Руднев С.М., Иванова
Г.Ф., Фисун А.А., Гостищева С.Е., Бондаренко А.И.
Бактерицидная активность полиморфно-ядерных лей-
коцитов крови белых мышей, привитых против чумы,
и в различных схемах инфицирования чумной инфек-
цией 56

Диагностика

Ярков С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А.,
Бровкина А.Н., Злобин В.Н., Тартаковский И.С.
Выявление возбудителя легионеллеза иммуно-
хроматографией с визуальной и видеоцифровой detec-
цией 61

Биотехнология

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров
А.К., Савицкая Л.В., Галкина М.В., Минаева
Л.Н., Михеева Т.А., Селезнёва А.Г., Жулидов И.М.,
Свинцов Р.А., Лазаренко Г.П., Брандзишевский
Ю.В. Изучение анафилактикогенных свойств F(ab')₂-
фрагментов гетерологичного антирабического имму-
ноглобулина 65

Захарова Т.Л., Заднова С.П., Ливанова Л.Ф.,
Киреев М.Н., Смирнова Н.И. Использование реком-
бинантных штаммов для одновременного получения
нескольких очищенных основных протективных анти-
генов холерного вибриона 68

Юбилей

К 80-летию академика РАМН Б.Ф.Семенова 72

К 80-летию академика РАМН С.Г.Дроздова 72

К 75-летию Ростовского-на-Дону научно-исследо-
вательского противочумного института 73

К 75-летию Иркутского научно-исследовательского
противочумного института 75

Microbiology

Kuznetsova E.M., Shepelev I.A., Volokh O.A.
Structural and Functional Characterization of Main
Francisella tularensis Antigens

Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V.
Comparative Analysis of *inv* Gene Structure in Strains of
Plague and Pseudotuberculosis Agents

Immunology, Pathogenesis

Afanas'eva G.A., Chesnokova N.P., Kutyrev V.V.
Pathogenesis Interrelation of Insufficiency of Erythrocytes
Antiradical Protection and Disturbance of Blood
Rheological Properties in Bacterial Endotoxemia

Budyka D.A., Abzaeva N.V., Rudnev S.M., Ivanova
G.F., Fissun A.A., Gostischeva S.E., Bondarenko
A.I. Bactericidal Activity of Polymorphonuclear Blood
Leucocytes of White Mice Vaccinated Against Plague and
in Different Schemes of Introduction of Plague Infection

Diagnostics

Yarkov S.P., Tret'yakov S.I., Basharova L.A.,
Brovkina A.N., Zlobin V.N., Tartakovskiy I.S.
Legionellosis Agent Indication Using Immunochroma-
tography with Visual and Digital Video Detection

Biotechnology

Generalov S.V., Abramova E.G., Nikiforov
A.K., Savitskaya L.V., Galkina M.V., Minaeva L.N.,
Mikheeva T.A., Selezneva A.G., Zhulidov I.M., Svintsov
R.A., Lazarenko G.P., Brandishevskiy Yu.V. Study of
Anaphylactogenic Properties of F(ab')₂-Fragments of
Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin

Zakharova T.L., Zadnova S.P., Livanova L.F., Kireev
M.N., Smirnova N.I. Recombinant Strains Application
for Simultaneous Preparation of Several Purified Cholera
Vibrio Antigens

Anniversaries

To the 80-th anniversary of RAMS Academician
B.F.Semenov

To the 80-th anniversary of of RAMS Academician
S.G.Drozhdov

To the 75-th anniversary of Rostov-on-Don Anti-
Plague Research Institute

To the 75-th anniversary of Irkutsk Anti-Plague
Research Institute of Siberia and Far East

А.В.Топорков, В.П.Топорков, А.Е.Шиянова, В.В.Кутырев

ЧРЕЗВЫЧАЙНАЯ СИТУАЦИЯ В ОБЛАСТИ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ НАСЕЛЕНИЯ КАК УНИФИЦИРОВАННЫЙ ОБЪЕКТ НАДЗОРА И ОПЕРАТИВНОГО РЕАГИРОВАНИЯ В РАМКАХ СОВРЕМЕННОЙ СТРАТЕГИИ БОРЬБЫ С ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ

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

Реализация решений саммита «G 8» (2006 г.) в области борьбы с инфекционными болезнями и завершаемая модернизация российских специализированных противочумных бригад (СПЭБ) противочумных учреждений Роспотребнадзора, в том числе с учетом их применения за рубежом, предполагает определение унифицированного объекта их целенаправленной деятельности. При внедрении на территории Российской Федерации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) в качестве унифицированного объекта эпидемиологического надзора, санитарной охраны, предупреждения и ликвидации чрезвычайных эпидемических ситуаций, обеспечения биологической безопасности нормативно закреплена «чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения». Такое понятие и предлагается в качестве объекта деятельности СПЭБ.

Ключевые слова: чрезвычайная ситуация, санитарная охрана, эпидемиологический надзор, биологическая безопасность, СПЭБ.

Реализация на территории Российской Федерации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) и решений саммитов стран «G 8» (Россия, 2006; Германия, 2007; Япония, 2008) в области борьбы с инфекционными болезнями, определивших стратегию ее осуществления в современных условиях, потребовали корректировки базового понятийного аппарата в сфере противочумной готовности и оперативного реагирования, включая и применение специализированных противочумных бригад (СПЭБ). Возникла необходимость в определении на национальном уровне унифицированного объекта надзора и контроля, который, с одной стороны, должен соответствовать международному стандарту, а с другой – быть вычлененным в практических целях из широко трактуемого понятия «чрезвычайная ситуация», принятого в Российской Федерации.

В Международных медико-санитарных правилах – ММСП (2005 г.), вступивших в силу в 2007 г., в 194 странах-членах Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) объектом глобального эпидемиологического надзора и контроля определена чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение. С реализацией ММСП (2005 г.) внедряется по существу новый стандарт гибкой и более совершенной системы глобального и национального эпидемиологического надзора и контроля в расчете на неуклонно меняющуюся эпидемиологическую конъюнктуру, появление новых неизвестных инфекционных болезней и возвращение известных нозологических форм, а также спектр рисков для здоровья населения, обусловленных опасными биологическими, химическими, радиоактивными факторами.

Цель применения ММСП (2005 г.) – предотвращение международного распространения болезней, предохранение от них, борьба с ними и принятие

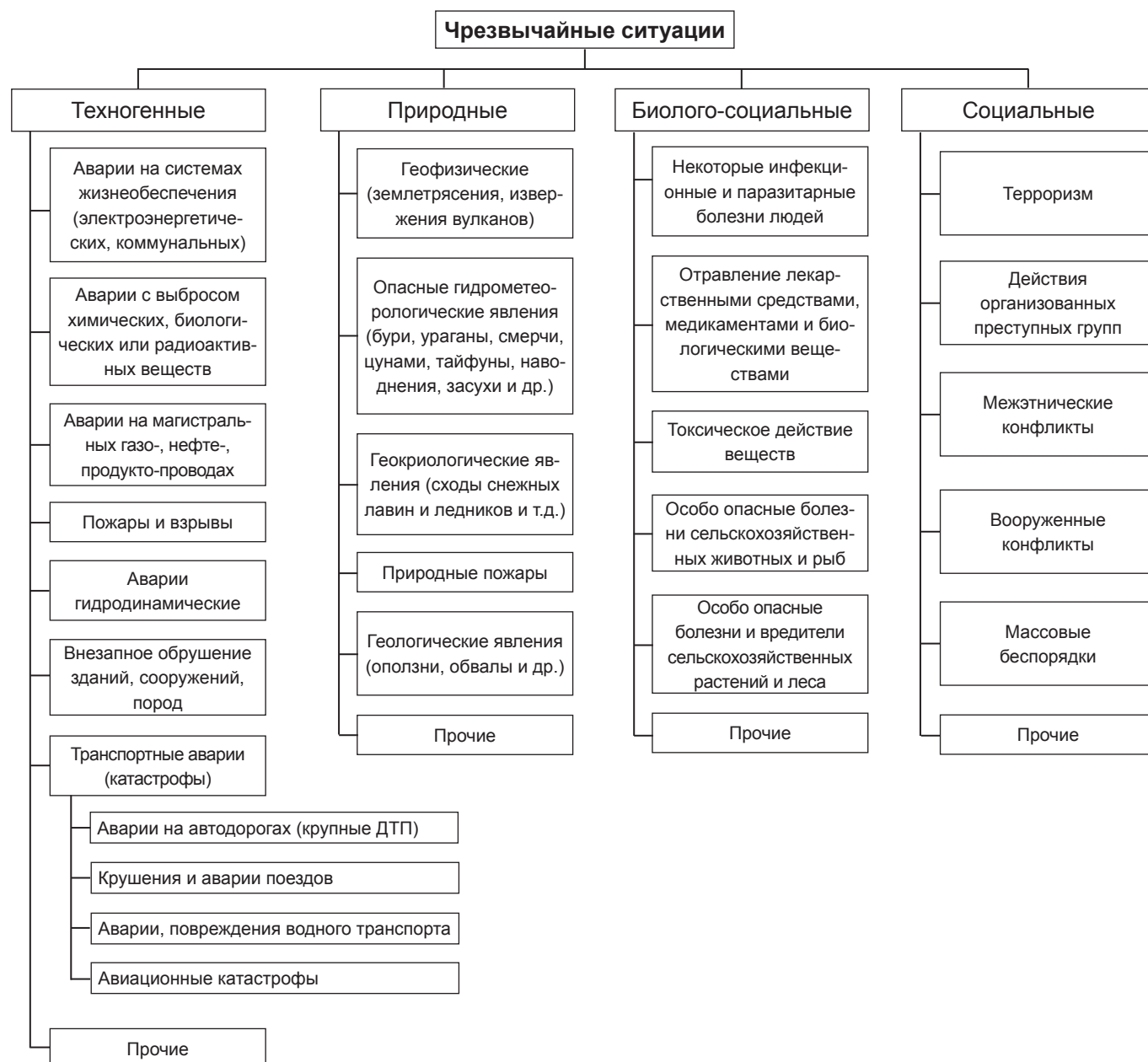
ответных мер на уровне общественного здравоохранения, которые соизмеримы с рисками для здоровья населения и ограничены ими и которые не создают излишних препятствий для международных перевозок и торговли. Основной принцип – упреждающее управление риском, направленное на раннее выявление и ликвидацию вспышки инфекционной болезни до формирования международной угрозы. Концептуальную новизну ММСП (2005 г.) составляет определение в качестве глобального объекта надзора и контроля (ответных мер) такого понятия, как чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение («public health emergency of international concern») [7].

Перевод emergency звучит как непредвиденный случай, крайность, критическое положение, а также как чрезвычайный в атрибутивном, определительном употреблении [3]. Именно это значение было использовано при переводе нового понятия, введенного ММСП (2005 г.) для обозначения экстраординарного события, представляющего риск для здоровья населения в других государствах и могущего потребовать скоординированных международных ответных мер.

Согласно ст. 22 Устава ВОЗ [25] правила, принимаемые Всемирной ассамблеей здравоохранения, становятся обязательными для всех стран-членов ВОЗ, за исключением тех, которые известят Генерального директора ВОЗ об отклонении этих правил или об оговорках в отношении отдельных их положений.

Вступление в силу ММСП (2005 г.) на территории Российской Федерации произошло без оговорок или каких либо условий, поскольку все предложения Российской Федерации принципиального характера по концептуальной новизне указанного международного нормативного акта были приняты ВОЗ в рабочем порядке еще на этапе разработки его проекта.

В гармонизированных с ММСП (2005 г.)



Классификация чрезвычайных ситуаций
(на основе приказов МЧС России, Минздрава России [16, 19],
материалов постановления Правительства Российской Федерации от 06.01.2006 г. № 1 [12])

санитарно-эпидемиологических правилах – СП 3.4.2318-08 «Санитарная охрана территории Российской Федерации» нормативно закреплён термин чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, что означает экстраординарное событие санитарно-эпидемиологического характера, представляющее риск для здоровья населения при распространении на территории страны и требующее скоординированных на межведомственном уровне ответных мер. Данное определение включает то же содержание и те же принципы, что и в ММСП (2005 г.).

Осуществляемые в Российской Федерации целенаправленное укрепление и модернизация стационарной лабораторной сети [9] и мобильных формирований – СПЭБ противочумных учреждений

Роспотребнадзора [10] – направлены на приведение потенциала страны к уровню, адекватному современным угрозам и вызовам.

Вместе с тем на межведомственном (межсекторальном) уровне в Российской Федерации в отличие от ММСП (2005 г.) и СП 3.4.2318-08 принята широкая трактовка термина чрезвычайная ситуация, охватывающая в смысловом отношении и включающая в соответствии с федеральным законодательством практически весь спектр экстраординарных событий в природе и обществе вне зависимости от их значимости как чрезвычайной ситуации для национального и международного здравоохранения. Включение в понятие чрезвычайная ситуация широкого спектра неоднородных явлений природного и антропогенного характера отражено на схеме.

Как можно видеть, такая сложноподчиненная структура ЧС не соответствует содержанию и практическому назначению термина, принятому на международном уровне.

Внедрение международного стандарта определения чрезвычайной ситуации на территории Российской Федерации, естественно, приходится соотносить с более широкой трактовкой данного термина в стране. Гармонизация содержания термина чрезвычайная ситуация на международном и национальном (Российская Федерация) уровне является не только объективным свидетельством успешного внедрения ММСП (2005 г.) в стране-члене ВОЗ, какой является Россия, но и служит серьезным подспорьем для укрепления межведомственного взаимодействия в вопросах предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций, особенно тех, которые связаны с эпидемическим распространением новых инфекционных болезней. Такая гармонизация также необходима в плане сотрудничества с ВОЗ в выработке подходов по применению российских СПЭБ при верификации и ликвидации чрезвычайных ситуаций за рубежом в составе международных групп под эгидой ВОЗ.

Содержание понятия чрезвычайная ситуация в ММСП (2005 г.), в СП 3.4.2318-08 и смысловой части широко трактуемого понятия чрезвычайной ситуации на территории Российской Федерации состоит в следующем.

Законодательно [26] в Российской Федерации термин чрезвычайная ситуация определен как обстановка на определенной территории, сложившаяся в результате аварии, опасного природного явления, катастрофы, стихийного или иного бедствия, которые могут повлечь или повлекли за собой человеческие жертвы, ущерб здоровью людей или окружающей природной среде, значительные материальные потери и нарушение условий жизнедеятельности людей. Ликвидация чрезвычайных ситуаций – это аварийно-спасательные и другие неотложные работы, проводимые при возникновении чрезвычайных ситуаций и направленные на спасение жизни и сохранение здоровья людей, снижение размеров ущерба окружающей природной среде и материальных потерь, а также на локализацию зон чрезвычайных ситуаций, прекращение действия характерных для них опасных факторов.

Выполнение задач по защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций осуществляется в рамках функционирования единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций (РСЧС), определенной Постановлением Правительства Российской Федерации от 30 декабря 2003 г. N 794 [17]. В соответствии с этим актом в составе РСЧС федеральными органами исполнительной власти¹ созданы подсистемы, функционально

закрывающие всю номенклатуру элементов широко трактуемого понятия чрезвычайная ситуация. Координирующие функции между подсистемами и их элементами выполняют комиссии по предупреждению и ликвидации чрезвычайных ситуаций и обеспечению пожарной безопасности, действующие на федеральном, региональном, муниципальном и объектовом уровнях. Функции управления и координации в рамках РСЧС возложены на Министерство Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий (МЧС России) и его территориальные органы.

Подсистемы РСЧС, созданные в рамках Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, – это Всероссийская служба медицины катастроф; резервы медицинских ресурсов; социальная защита населения, пострадавшего от чрезвычайных ситуаций. В зоне чрезвычайных ситуаций данная служба разворачивает полевые госпитали [1]. Подсистема Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека функционально определена как подсистема надзора за санитарно-эпидемиологической обстановкой. В зоне чрезвычайных ситуаций разворачивает СПЭБ противочумных учреждений, санитарно-эпидемиологические отряды (СЭО) и санитарно-эпидемиологические бригады (СЭБ) ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации [11].

Задачи функциональной подсистемы Всероссийской службы медицины катастроф определены Приказом Минздравсоцразвития России от 28 ноября 2006 г. № 803 [21] как организация и осуществление медицинского обеспечения населения при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера, террористических актов в ходе вооруженных конфликтов; а также организация мероприятий, направленных на предупреждение и ликвидацию неблагоприятных медико-санитарных и санитарно-эпидемиологических последствий чрезвычайных ситуаций.

Медико-санитарное обеспечение в чрезвычайных ситуациях включает лечебно-эвакуационные, санитарно-гигиенические и противоэпидемические мероприятия, снабжение медицинским имуществом, медицинскую защиту населения [2]. На систему Минздравсоцразвития России возлагается в основном оказание первой медицинской и врачебной помощи пострадавшим [24].

Положением о функциональной подсистеме надзора за санитарно-эпидемиологической обстановкой (Роспотребнадзора) единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций [12] внесены дополнения и изменения санитарного и эпидемиологического характера в определение понятия чрезвычайная ситуация, которая трактуется в этом документе как опасная для населения обстановка на определенной территории,

¹МВД России, МЧС России, Минобороны России, Спецстрой России, Минздравсоцразвития России, Минобрнауки России, МПР России, Минпромэнерго России, Минтранс России, Мининформсвязи России, Минсельхоз России, Минэкономразвития России, Минрегион России, Росатом, Росгидромет, Ростехнадзор.

сложившаяся в результате аварии, природного явления, катастрофы, стихийного или иного бедствия, эпидемии, массовых заболеваний и отравлений среди населения, сопровождающаяся человеческими жертвами, создающая потенциальную или реальную угрозу здоровью людей или нарушающая гигиенические условия жизни населения. Предупреждение и ликвидация чрезвычайных ситуаций – комплекс организационно-технических, медико-санитарных, гигиенических и санитарно-эпидемиологических мероприятий, направленных на предупреждение и ликвидацию или снижение вероятности возникновения чрезвычайных для населения ситуаций техногенного, природного или эпидемиологического характера.

Основные два варианта классификации чрезвычайных ситуаций представлены в нормативно-правовых документах. В целях установления единого подхода к их оценке чрезвычайные ситуации природного и техногенного характера классифицируются по масштабам потерь и ущерба на локальные, муниципальные, межмуниципальные, региональные, межрегиональные, федеральные [16]. Что касается классификации чрезвычайных ситуаций по характеру источника их возникновения, в литературе можно найти несколько вариантов [2, 8, 19, 22, 23]. Представленная на схеме классификация по характеру источника составлена на основе документов Роспотребнадзора и МЧС России. Инфекционные, паразитарные болезни и отравления людей отнесены к биолого-социальным² чрезвычайным ситуациям.

В публикациях при сравнительном анализе понятий чрезвычайная ситуация, существующих в нормативных актах МЧС России, Минздравсоцразвития России, приводится отличие критериев чрезвычайных ситуаций, используемых этими ведомствами в соответствии с их ролью в ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. Основным критерием чрезвычайной ситуации в нормативных актах Минздравсоцразвития России является количественный критерий (число пострадавших), в документах МЧС России – источник и масштаб нарушений жизнедеятельности [24]. Подразделения МЧС России часто не привлекаются для ликвидации таких биолого-социальных чрезвычайных ситуаций, как инфекционные и паразитарные болезни, с другой стороны, формирования службы медицины катастроф не привлекаются при событиях, не ведущих к потерям среди населения, но подпадающих под критерии чрезвычайных ситуаций, существующие в нормативных актах МЧС России. С этим связано, в частности, расхождение итоговых величин годовых статистиче-

ских показателей чрезвычайных ситуаций в системе Минздравсоцразвития России и МЧС России [6].

Постановлением Совета Министров СССР от 15 декабря 1990 г. была создана государственная система по предупреждению и действиям в чрезвычайных ситуациях, которая объединила органы управления, силы и средства, в компетенцию которых входили задачи по защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера. Оценка принадлежности инфекционных болезней к чрезвычайным ситуациям проводилась по критериям, утвержденным Государственной Комиссией Совмина СССР по чрезвычайным ситуациям 13.12.90 г. [5] – групповые заболевания особо опасными инфекциями от 50 человек, невыявленной этиологии – 20 человек, и лихорадочные заболевания неустановленного характера – 15 человек. Приказом Минздрава России от 07.10.1992 № 268 [18] регламентировалось представление информации внутри ведомства обо всех чрезвычайных ситуациях, независимо от их характера.

В настоящее время, конкретизируя чрезвычайные ситуации, требующие внеочередного информирования об их возникновении и учета нормативными актами Минздравсоцразвития России и Роспотребнадзора [13, 20], определены количественные критерии чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера, в том числе единичные случаи заболеваний (отравлений) и групповые заболевания, и регламентирован перечень инфекционных, паразитарных болезней, пищевых и групповых профессиональных отравлений людей, фактов приостановления (запрещения) реализации пищевых продуктов, загрязнений окружающей среды, представляющих собой такую ситуацию. Подобный термин, но учитывающий только эпидемиологические аспекты (относящийся только к инфекционным болезням), был определен в международном практическом руководстве ВОЗ, подготовленном по предложению неофициального совещания ВОЗ (1981 г., Женева) по вопросам разработки стратегий контроля таких чрезвычайных ситуаций [4] – чрезвычайные ситуации, вызванные эпидемиями инфекционных болезней, или чрезвычайные эпидемические ситуации; приведены критерии определения момента, когда эпидемическая болезнь может рассматриваться как создающая чрезвычайную ситуацию для системы общественного здравоохранения. В российском терминологическом поле термин чрезвычайная эпидемическая ситуация определяется как прогрессирующее нарастание числа инфекционных больных в эпидемических очагах, приводящее к нарушению сложившегося ритма жизни населения данной территории, возможности выноса возбудителя за ее пределы, утяжелению течения болезни и увеличению числа неблагоприятных условий [2].

Природные, техногенные, экологические, конфликтные чрезвычайные ситуации являются условиями, которые могут привести к возникновению

² В ряде источников (Постановление Правительства Российской Федерации от 06.01.2006 г. «О федеральной целевой программе «Снижение рисков и смягчение последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера в Российской Федерации до 2010 г.» (в ред. Постановлений Правительства РФ от 14.07.2006 N 425, от 28.07.2006 N 465), «Санитарно-противоэпидемическое обеспечение населения в чрезвычайных ситуациях» Руководство, 2006 г.) инфекционные, паразитарные болезни и отравления отнесены к природным чрезвычайным ситуациям.

чрезвычайной ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. В зоне чрезвычайных ситуаций возможна неблагоприятная эпидемиологическая обстановка, обусловленная повреждением или разрушением систем жизнеобеспечения населения (водопровода, канализации и очистных сооружений), нарушениями работы предприятий пищевой промышленности и торговли, лечебных и противозидемических учреждений, миграцией населения из пораженных районов [27]. Такие обстоятельства не всегда реализуются в эпидемические последствия, но резкое ухудшение социально-бытовых и санитарно-гигиенических условий жизни людей, среды обитания человека оказывают вредное воздействие на человека и условия его жизнедеятельности, а значит, можно говорить о чрезвычайной ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения или риске ее возникновения.

Итак, существующая сложная для практического применения, неоднозначная, разноплановая и устаревшая по существу и по форме трактовка чрезвычайной ситуации, демонстрирующая целое поле чрезвычайных ситуаций, затрудняет практическое применение такого термина как на национальном, так и международном уровне в рамках реализации современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями, постулируемой решениями саммитов стран «G8» (2006, 2007, 2008 гг.) и ММСП (2005 г.).

В ММСП (2005 г.) и его приложениях 1 и 2 дается определение базового термина, смысловая нагрузка и алгоритм верификации чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения, имеющих международное значение, по таким трем принципиально важным признакам, как серьезность воздействия на здоровье населения, необычный либо неожиданный характер с высоким потенциалом распространения (последовательно на местном, промежуточном, национальном и международном уровнях) и значимость для международных сообщений.

В Российской Федерации в качестве унифицированного объекта надзора и контроля в рамках реализации указанной стратегии борьбы с инфекционными болезнями предлагается использовать понятие «чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения (СП 3.4.2318-08), идентичное в смысловом отношении понятию чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение (ММСП – 2005 г.).

Чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на территории Российской Федерации является унифицированным объектом при осуществлении эпидемиологического надзора, санитарной охраны, предупреждении и ликвидации чрезвычайной ситуации, обеспечении биологической безопасности. Данное понятие, адекватное международному уровню его признания, должно учитываться при выполнении Постановления Правительства Российской

Федерации от 16 мая 2005 г. N 303 О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации [15].

Чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения является объектом деятельности СПЭБ на национальном и международном уровне, возникающая как самостоятельно, так и в условиях стихийных бедствий, техногенных катастроф, социальных конфликтов с гуманитарными последствиями, террористических актов с применением патогенных биологических агентов.

На предупреждение, верификацию и ликвидацию таких чрезвычайных ситуаций рассчитаны структурно-функциональная организация и материально-техническое оснащение модернизированных СПЭБ противочумных учреждений Роспотребнадзора, тактика применения которых (в полном составе, в виде отдельных модулей, оперативных эпидемиолого-диагностических групп) позволяет решать задачи при оказании помощи территориальным структурам здравоохранения в широком диапазоне кризисных ситуаций в зоне чрезвычайной ситуации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батрак Н.И. Организационные основы противоэпидемического обеспечения населения при локальных вооруженных конфликтах и биологических террористических актах. [Автореф. дис. ... д-ра мед. наук]. М.: 2003.
2. Безопасность России. Правовые, социально-экономические и научно-технические аспекты. Словарь терминов и определений, изд-е 2-е, доп. М.: МГФ «Знание»; 1999. 368 с.
3. Большой англо-русский словарь. М.: АСТ; МН.: Харвест; 2005. 1168 с.
4. Брес П. Действия служб общественного здравоохранения в чрезвычайных ситуациях, вызванных эпидемиями. Практическое руководство. ВОЗ, Женева; 1990. 293 с.
5. Временные критерии информации о чрезвычайных ситуациях. Утв. Государственной Комиссией Совмина СССР по чрезвычайным ситуациям 13.12.90 г.
6. Гончаров С.Ф., Сахно И.И., Гребенюк Б.В. Готовность здравоохранения субъектов Российской Федерации к ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций и пути ее повышения. Пробл. безопасности и чрезвычайных ситуаций. 2008; 5:42–57.
7. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). ВОЗ, Женева; 2006.
8. Организация и проведение работы специализированными противозидемическими бригадами в чрезвычайных ситуациях. Методические указания. МУ 3.1.957-00.
9. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Пакскина Н.Д., Топорков А.В. Актуальные направления совершенствования лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней. Пробл. особо опасных инф. 2009; 1(99):5–10.
10. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Куличенко А.Н., Топорков В.П. Специализированные противозидемические бригады (СПЭБ): опыт работы и тактика применения в современных условиях. Пробл. особо опасных инф. 2008; 4(98): 5–14.
11. Онищенко Г.Г., Шапошиников А.А., Субботин В.Г. и др. Обеспечение биологической, химической и токсикорадиологической безопасности при террористических актах. М.: МП Гигиена; 2005. 401 с.
12. Положение о функциональной подсистеме надзора за санитарно-эпидемиологической обстановкой единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций (Утв. Руководителем Роспотребнадзора от 05.10.2005 г. № 01-12/176-05).
13. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.02.2009 № 11 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера».

14. Постановление Правительства Российской Федерации от 06.01.2006 г. № 1 «О федеральной целевой программе «Снижение рисков и смягчение последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера в Российской Федерации до 2010 г.» (в ред. Постановлений Правительства РФ от 14.07.2006 N 425, от 28.07.2006 N 465).
15. Постановление Правительства Российской Федерации от 16.05.2005 г. № 303 «О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации» (с изменениями от 23 марта 2006 г., 13 марта 2008 г.).
16. Постановление Правительства Российской Федерации от 21 мая 2007 г. N 304 «О классификации чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера».
17. Постановление Правительства Российской Федерации от 30 декабря 2003 г. N 794 «О единой государственной системе предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций».
18. Приказ Минздрава России от 07.10.1992 № 268 «О порядке представления информации в чрезвычайных ситуациях».
19. Приказ Минздрава России от 23 апреля 2002 г. № 131 «Об утверждении инструкций по заполнению учетных форм службы медицины катастроф» (с изм. согл. Приказа Минздравсоцразвития РФ от 03.02.2005 № 112).
20. Приказ Минздравсоцразвития России от 31.05.2005 г. № 376 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера».
21. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 28 ноября 2006 г. № 803 «Об утверждении Положений о функциональной подсистеме Всероссийской службы медицины катастроф и Резервов медицинских ресурсов единой государственной системы предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций».
22. Приказ Министра МЧС России № 329 от 08.07.2004 г. «Об утверждении критериев информации о чрезвычайных ситуациях».
23. Санитарно-противоэпидемическое обеспечение населения в чрезвычайных ситуациях. Руководство. М.: ЗАО «МП Гигиена»; 2006. 550 с.
24. Сидоров М.Г., Хирманов В.Н., Бойков А.А. и др. Структура чрезвычайных ситуаций и характеристика пострадавших при них в Санкт-Петербурге в 2006–2007 гг. Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2008; 3:10–15.
25. Устав (конституция) Всемирной организации здравоохранения (принят Международной конференцией здравоохранения, Нью-Йорк, 1946 г., поправки (резолюции WHA26.37, WHA29.38, WHA39.6 и WHA51.23), вступили в силу 3 февраля 1977 г., 20 января 1984 г., 11 июля 1994 г. и 15 сентября 2005 г., соответственно). http://www.who.int/governance/eb/who_constitution_ru.pdf

26. Федеральный Закон от 21 декабря 1994 года № 68-ФЗ «О защите населения и территории от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера» (в ред. Федеральных законов от 28.10.2002 № 129-ФЗ, от 22.08.2004 № 122-ФЗ, от 04.12.2006 № 206-ФЗ, от 18.12.2006 № 232-ФЗ, от 30.10.2007 № 241-ФЗ)

27. Федоров Ю.М., Кологоров А.И., Топорков В.П. Санитарная охрана территорий и специфическая профилактика при ликвидации эпидемиологических последствий чрезвычайных ситуаций. Медицина катастроф. 2006; 3:21–23.

Об авторах:

Топорков А.В., Топорков В.П., Шиянова А.Е., 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

A.V.Toporkov, V.P.Toporkov, A.E.Shiyanova, V.V.Kutyrev

Emergency Situation in the Sphere of Population Sanitary and Epidemiologic Welfare as Unified Object of Surveillance and Active Response in the Scope of Up-To-Date Strategy of Infectious Diseases Control

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

Implementation of "G8" Summit resolutions (2006) in the sphere of infectious diseases control and completing of modernization of the Russian specialized anti-epidemic teams (SAET) of Rospotrebnazor anti-plague institutes, including their usage abroad, assume identification of the unified object of their purposeful activity. Emergency situation in the sphere of population sanitary and epidemiologic welfare was specified within the normative documents as the unified object of epidemiologic surveillance, sanitary protection, prevention and liquidation of emergency epidemic situations, biosafety provision in the course of International Health Regulations (2005) implementation in the territory of the Russian Federation. This definition is suggested as the object of SAET activity.

Key words: emergency situation, sanitary protection, epidemiologic surveillance, biosafety, SAET.

Authors:

Toporkov A.V., Toporkov V.P., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 18.05.09.

В.Е.Безсмертный¹, В.П.Попов¹, В.И.Жуков², С.М.Иванова¹

**ОБЗОР ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ТУЛЯРЕМИИ
НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ВО ВТОРОМ ПОЛУГОДИИ 2008 г.
И ПРОГНОЗ НА ПЕРВОЕ ПОЛУГОДИЕ 2009 г.**

¹ФГУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора,

²ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Проанализированы данные эпизоотологического обследования на туляремию, представленные Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», ФГУЗ «Противочумные станции» и ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». Дан прогноз на первое полугодие 2009 г.

Ключевые слова: туляремия, эпизоотическая ситуация, прогноз.

Во втором полугодии 2008 г. эпизоотические проявления туляремии выявлены на территории 33 субъектов Российской Федерации, в том числе в Республиках Бурятия, Карелия, Коми, Мордовия, Саха, Алтайском, Красноярском, Ставропольском, Хабаровском краях, Архангельской, Брянской, Владимирской, Волгоградской, Воронежской, Ивановской, Иркутской, Калужской, Камчатской, Кемеровской, Кировской, Липецкой, Московской, Нижегородской, Новгородской, Омской, Орловской, Пензенской, Рязанской, Саратовской, Смоленской, Свердловской, Тамбовской, Читинской областях.

В Центральном, Сибирском и Дальневосточном федеральных округах изолировано 16 культур возбудителя туляремии, в том числе 15 культур от иксодовых клещей и 1 – из воды.

Центральный федеральный округ – выделено 14 культур туляремии. В Брянской области (Карачевский, Комаричский, Погарский районы) от иксодовых клещей изолировано 7 культур возбудителя туляремии. В Смоленской области (Монастырщинский, Сычевский районы) от клещей *Dermacentor reticulatus* выделено 7 культур возбудителя туляремии. Кроме того, на территории Вяземского, Починковского, Смоленского, Ярцевского районов, гг. Рославль, Сафоново и пос. Кардымово получены положительные серологические реакции на туляремию при исследовании серых крыс и домовых мышей. В Владимирской области (Александровский, Камешковский, Ковровский, Петушинский, Судогодский, Суздальский районы, г. Владимир) антиген туляремии выявлен при исследовании грызунов, продуктов их жизнедеятельности, гнезд нор грызунов. В Воронежской области (Аннинский, Калачеевский, Лискинский и Петропавловский районы) антиген туляремии обнаружен при исследовании полевых, лесных и желтогорлых мышей, обыкновенных, рыжих и водяных полевок. Кроме того, в Лискинском районе положи-

тельные серологические результаты исследования получены при исследовании слепней рода *Chrysops*. В Ивановской области (Пестяковский, Палехский районы) положительные результаты серологических исследований получены при анализе проб сена. В Калужской области (Мещовский район) находки антигена туляремийного микроба зарегистрированы при исследовании полевых и малых лесных мышей; в пригороде Калуги – антиген туляремийного микроба выявлен при исследовании рыжей полевки.

В Липецкой области (Усманинский район) при серологическом исследовании крови грызунов также получен положительный результат. В Орловской области (Должанский, Ливенский, Орловский районы) антиген туляремийного микроба обнаружен при исследовании иксодовых клещей в титрах 1:20 и более. Более того, положительные серологические результаты получены при исследовании мышевидных грызунов, добытых с территорий Глазуновского, Мценского, Хотынецкого, Орловского, Шаблыкинского районов и г. Орел.

В Рязанской области (Рязанский, Рыбновский, Шиловский, Старожиловский, Захаровский, Клепиковский районы) при исследовании мелких млекопитающих получено 54 положительных серологических результата. В Тамбовской области при исследовании полевого материала в 49 пробах обнаружен антиген возбудителя туляремии. На территории Москвы эпизоотии туляремии, с участием полевых мышей и серых крыс, выявлены на территории Восточного, Южного, Северного и Западного административных округов.

Северо-Западный федеральный округ – культур туляремии не выделено. В Республике Карелия (Прионежский район) при серологическом исследовании полевых материалов получено 4 положительных на туляремию результата (1 проба погадок и 3 пробы помета хищных птиц). В Республике Коми (Корткеросский район) при серологическом исследовании грызунов в 2 случаях получен положительный на туляремию результат. В Архангельской области

положительные серологические результаты получены при исследовании иксодовых клещей. Кроме того, в 2008 г. здесь отмечены случаи заболевания людей туляремией. В Ленинградской области (Лужский район) также зарегистрирован случай заболевания туляремией. В Новгородской области (г. Новгород) положительные серологические результаты получены при исследовании серых крыс.

Южный федеральный округ – культур возбудителя туляремии не выделено. В Ставропольском крае (Шпаковский район) серологические исследования мелких млекопитающих дали положительный на туляремию результат. В Волгоградской области (Руднянский, Суворовский, Чернышковский районы, г. Волгоград) положительные серологические результаты получены при исследовании грызунов и иксодовых клещей.

Приволжский федеральный округ – культур туляремии не выделено. В Республике Мордовия (Атяшевский, Ковылкинский, Большеигнатовский, Старошайговский районы) при исследовании погадок хищных птиц антиген туляремии выделен в 15 пробах с титрами от 1:40 до 1:160. На территории Дубенского, Инсарского и Чамзинского районов получено 5 положительных серологических результатов на туляремию при исследовании клещей *Dermacentor reticulatus* (4 пробы, титры 1:20, 1:40, 1:80 и 1:160): в Инсарском районе – при исследовании иксодовых клещей *Ixodes ricinus* из (одна проба – 1:20). В Кировской области (Слободский, Вятско-Полянский, Лузский, Юрьянский, Кирово-Чепецкий, Верхнекамский районы) антиген туляремийного микроба обнаружен при исследовании мелких млекопитающих (обыкновенная бурозубка, рыжая полевка, полевая мышь, обыкновенная полевка). В Кировской области антиген туляремийного микроба также обнаружен при исследовании проб гнезд мышевидных грызунов и погадок хищных птиц. В Нижегородской области (Володарский, Лукояновский, Уренский, Шахунский, Автозаводский, Канавинский, Московский, Советский районы, г. Нижний Новгород) антиген возбудителя туляремии обнаружен при исследовании проб от мелких млекопитающих и объектов внешней среды. В Пензенской области (Пензенский, Кузнецкий районы) антиген туляремийного микроба обнаружен в 2 пробах от рыжих и обыкновенных полевков (титры 1:80 и 1:40). В Саратовской области положительные серологические результаты получены при исследовании проб иксодовых клещей, собранных в 10 районах области и в г. Саратове. В Аткарском и Татищевском районах положительные серологические результаты получены при исследовании экскрементов лисицы, в Лысогорском районе – экскрементов куницы, в Калининском районе – погадок хищных птиц (титры в РОА 1:80, в РНГА 1:40). У 78 клещей, снятых с людей, выявлен антиген туляремийного микроба в разведениях: РОА 1:20 – 3 шт., РНГА 1:20 – 1 шт.

Уральский федеральный округ – культур туляремии не выделено. В Свердловской области

(Пышминский, Каменский, Алапаевский, Белоярский районы) положительные серологические реакции получены при исследовании проб от грызунов и объектов внешней среды (погадки хищных птиц, субстрат нор грызунов).

Сибирский федеральный округ – выделена 1 культура туляремии. В Алтайском крае (Солтонский район, окрестности с. Солтон) культура туляремийного микроба получена от клещей *H. concinna*. В Алтайском крае (32 административных района) иммунодиагностическими методами циркуляция возбудителя туляремии подтверждена в 314 пробах исследуемого материала (мелкие млекопитающие, иксодовые клещи, помет диких плотоядных животных, погадки хищных птиц). С территорий 27 районов положительные серологические результаты получены от иксодовых клещей. В Республике Бурятия (Кабанский, Баргузинский районы) наличие антигена туляремийного микроба выявлено при исследовании 7 видов мелких млекопитающих, получены положительные результаты серологических исследований погадок хищных птиц (8,2 %) и иксодовых клещей *Dermacentor nuttalli* (в 4 пробах обнаружены антитела к возбудителю туляремии). В Читинской области (г. Чита) антитела к туляремийному микробу обнаружены у домовой мыши, отловленной в складском помещении молокозавода.

В Красноярском крае (Козульский, Краснотуранский, Мотыгинский, Шарыповский и Туруханский районы, г. Лесогорск) положительные серологические результаты получены при исследовании погадок хищных птиц. В Иркутской области (Заларинский район) также получены положительные результаты при исследовании погадок хищных птиц. В Кемеровской области развитие эпизоотии туляремии также подтверждено результатами серологических исследований полевых материалов, добытых в степной, притаежной и таежной ландшафтно-географических зонах. В Омской области (Большереченский, Колосовский, Крутинский, Называевский, Муромцевский, Оконешниковский, Саргатский, Таврический, Тюкалинский, Черлакский районы, г. Омск) положительные серологические результаты получены при исследовании проб от ондатр, серых полевков, лесных и полевых мышей, насекомоядных, псовых и кунных. Антиген туляремийного микроба выявлен в пробах воды, погадок хищных птиц, гнезд грызунов, льда.

Дальневосточный федеральный округ – выделена 1 культура туляремии. В Хабаровском крае (Хабаровский район) на территории Большого Хехцира из воды реки Лево́й выделена 1 культура туляремии. Осенью здесь же обнаружены серопозитивные зверьки с титром антител 1:80 и 1:160. Инфицированность водоемов здесь составила 1 % проб против 5 % в 2007 г. В Республике Саха (Якутия) антиген возбудителя туляремии был выявлен в экскрементах лисиц (21 %) и соболей (34 %), погадках хищных птиц (10 %). В Камчатской области в приго-

родной зоне г. Петропавловск-Камчатский антитела к возбудителю туляремии в титрах 1:20 выявлены у 2 обыкновенных бурозубок.

Прогноз эпизоотической обстановки по туляремии на первое полугодие 2009 года:

Центральный федеральный округ – возможны локальные эпизоотии в Брянской, Владимирской, Воронежской, Ивановской, Калужской, Кировской, Костромской, Курской, Липецкой (в очагах луго-полевого типа), Орловской, Рязанской, Смоленской (скирдовые эпизоотии), Тамбовской, Тверской, Тульской областях и в Москве.

Северо-Западный федеральный округ – локальные эпизоотии возможны в Вологодской, Ленинградской, Псковской областях. Низкой ожидается активность природных очагов туляремии в Республиках Карелия, Коми и в Новгородской области. На территории г. Санкт-Петербург возможны локальные эпизоотии туляремии в Московском и Пушкинском районах города. В Калининградской и Мурманской областях эпизоотий туляремии не ожидается.

Южный федеральный округ – возможны локальные эпизоотии на территории Краснодарского и Ставропольского краев и в Волгоградской области.

Приволжский федеральный округ – следует ожидать эпизоотий в Кировской, Нижегородской, Пензенской и Саратовской областях, в Республиках Татарстан, Мордовия, Чувашия, Марий Эл.

Уральский федеральный округ – прогнозируется сохранение активности очагов туляремии в Свердловской области. В Челябинской области эпизоотологическая обстановка останется напряженной. Маловероятно обострение эпизоотической обстановки по туляремии на всей территории южной части Тюменской области.

Сибирский федеральный округ – сохранится эпизоотическая активность природных очагов туляремии на территории Алтайского края, и в первую очередь в очагах предгорно-ручьевого типа. В Красноярском крае эпизоотии туляремии среди грызунов возможны в Ачинском, Каратузском, Туруханском, Ужурском и Шарыповском районах. В Иркутской области возможны локальные эпизоотии в популяциях серых полевых в лесной зоне Прибайкалья. В первой половине 2009 г. эпизоотии туляремии различной интенсивности будут протекать в популяциях ондатры в Крутинском, Называевском,

Любинском, Саргатском и Тюкалинском районах Омской области. Узколокальные эпизоотии туляремии могут возникнуть в местах зимовки водяной полевки в станциях переживания в Колосовском, Большеуковском, Тевризском, Тарском и Крутинском районах. Наиболее напряженной эпидситуация может сложиться в Муромцевском, Горьковском и Колосовском районах Омской области. Останется неблагоприятной и эпизоотологическая обстановка в пригородах и лесопарковых зонах г. Омска.

Дальневосточный федеральный округ – в Камчатском крае ожидается снижение эпизоотической активности природных очагов туляремии. В Республике Саха (Якутия) из-за низкой численности основного носителя инфекции – водяной полевки, эпизоотии в центральных приленских районах маловероятны, в то же время не исключается вероятность их проявления в локальных очагах Олекминского и Намского районов республики. В связи с подъемом численности мышевидных грызунов в осенний период, возможна активизация природных очагов туляремии в зимний период в луго-полевых биотопах на острове Сахалин.

Об авторах:

Безсмертный В.Е., Попов В.П., Иванова С.М. Противочумный центр. 119121, Москва, Погодинская ул., 10, с. 4. Тел.: (495) 402-90-01. E-mail: protivochym@nlm.ru

Жуков В.И. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19-а. E-mail: gsen@fcgsen.ru

V.E.Bezsmertny, V.P.Popov, V.I.Zhukov, S.M.Ivanova

Review of Tularemia Epizootic Situation in the Russian Federation Territory in the Second Half of 2008 and Prognosis for the First Half of 2009

Plague-Control Center of Rospotrebnadzor,
Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Moscow

Analyzed were data on tularemia epizootiologic survey presented by Rospotrebnadzor Administrations in the territorial subjects, Centers for Hygiene and Epidemiology, plague-control stations and Stavropol Anti-Plague Research Institute. Prognosis for the first half of 2009 is presented.

Key words: tularemia, epizootic situation, prognosis.

Authors:

Bezsmertny V.E., Popov V.P., Ivanova S.M. Plague Control Center of Rospotrebnadzor. 119121, Moscow, Pogodinskaya St., 10, B. 4. E-mail: protivochym@nlm.ru

Zhukov V.I. Federal Center for Hygiene and Epidemiology. 117105, Moscow, Varshavskoe Shosse, 19-a. E-mail: gsen@fcgsen.ru

Поступила 02.04.09.

А.А.Картоев², Н.Ф.Василенко¹, О.В.Малецкая¹, Н.Г.Варфоломеева¹, Т.Н.Орлова¹, Г.К.Исмаилова¹,
М.П.Григорьев¹, Б.Д.Комурзов², А.Н.Куличенко¹

ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНОЙ ОЧАГОВОСТИ КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В РЕСПУБЛИКЕ ИНГУШЕТИЯ

¹ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский институт», Ставрополь;

²Управление Роспотребнадзора по Республике Ингушетия, Назрань

В работе представлены результаты эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга за Крымской геморрагической лихорадкой (КГЛ) на территории Республики Ингушетия. В течение 5 лет (2004–2008 гг.) зарегистрированы и лабораторно подтверждены 6 случаев заболевания КГЛ, из них 3 (50 %) – с летальным исходом. Установлена зараженность вирусом ККГЛ иксодовых клещей 5 видов, при этом 67,7 % составляют клещи *Boophilus annulatus*. Антиген вируса ККГЛ и антитела к нему выявлены у крупного и мелкого рогатого скота. В сыворотках крови доноров обнаружены специфические антитела в титрах 1:800 – 1:1600. Полученные данные свидетельствуют о наличии природного очага КГЛ на территории Республики Ингушетия.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, природный очаг, иксодовые клещи, *Hyalomma marginatum*, *Boophilus annulatus*.

Природные очаги Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) известны на обширной территории Европы, Азии и Африки и приурочены, главным образом, к равнинам; эпизоотические и эпидемические проявления инфекции регистрируются на территориях, характеризующихся полупустынными, степными, лесостепными и пойменными ландшафтами [1]. С середины 90-х годов прошлого столетия наблюдается их активизация. В 1996 г. эпидемические осложнения отмечены в Южно-Африканской Республике, в 2000 г. – в Пакистане и Афганистане, в 2001 г. – в Косово. Согласно информации ВОЗ, в феврале 2003 г. заболевания КГЛ зарегистрированы в Мавритании, где заболели 30 человек, 6 из них умерли [8–11]. Особую актуальность КГЛ приобрела для Юга России. За десять лет (1999–2008 гг.) в ЮФО заболели КГЛ 1216 человек, из них у 60 (4,9 %) заболевание закончилось летальным исходом [2, 4, 5].

Первые случаи заболевания людей КГЛ в Республике Ингушетия (РИ) были зарегистрированы в октябре 2004 г. в селе Новый Редант, Малгобекского района. Заболели члены одной семьи (всего четыре человека), при этом три случая окончились летальным исходом. В связи с этим сотрудниками СтавНИПЧИ совместно с санитарно-эпидемиологической службой РИ было проведено эпизоотологическое обследование очага в Малгобекском районе. Антиген и РНК вируса ККГЛ были выявлены в трех пробах сывороток крови крупного рогатого скота и четырех суспензиях иксодовых клещей. Зараженными оказались клещи *Boophilus annulatus* (три пробы) и *Haemaphysalis otophila* (одна проба) [3, 6, 7]. В связи с этим начиная с 2005 г. нами ежегодно проводилось эпизоотологическое обследование территории РИ.

Целью данной работы явилось изучение особенностей формирования природного очага Крымской геморрагической лихорадки на территории Республики Ингушетия.

Материалы и методы

При выполнении работы использован полевой и клинический материал: 5112 особей иксодовых клещей, 866 проб сывороток крови животных, 257 проб сывороток крови больных, подозрительных на заболевание КГЛ и контактных лиц, 121 проба сывороток крови доноров. Для индикации возбудителя КГЛ в полевом материале использовали тест-систему иммуноферментную «ВектоКрым-КГЛ-антиген» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) и ПЦР-тест-систему «АмплиСенс Вирус ККГЛ» для качественной ЭФ детекции в агарозном геле производства ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва). Образцы крови сельскохозяйственных животных на наличие антител к вирусу ККГЛ исследовали с помощью коньюгата белка А с пероксидазой хрена производства НИИЭМ им. Пастера (Санкт-Петербург). Для сенсibilизации микропланшетов использовали антиген вируса ККГЛ, полученный в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН. Лабораторную диагностику проводили методом ИФА с помощью тест-систем «ВектоКрым-КГЛ-IgM» и «ВектоКрым-КГЛ-IgG» и методом ПЦР. Результаты ИФА учитывали на регистрирующем фотометре Stat Fax 2100 (USA). Вирусиформность клещей определяли на основании расчета процента положительных на антиген вируса ККГЛ проб клещей в ИФА с использованием методики В.Н. Беклемишева (1963).

Результаты и обсуждение

В период с 2005 по 2008 год эпизоотологическим обследованием были охвачены территории четырех административных районов РИ, расположенных в трех ландшафтных зонах: степной (Малгобекский, Сунженский), предгорной (Назрановский) и горной (Джейрахский). Сбор полевого материала проводили с апреля по сентябрь.

Общее количество исследованных клещей составило 5112 экз. (514 пулов), в том числе: *Boophilus annulatus* – 3467 (832), *Dermacentor marginatus* – 257 (79), *D. reticulatus* – 62 (42), *Rhipicephalus rossicus* – 713 (166), *R. bursa* – 9 (8), *Haemaphysalis otophila* – 218 (67), *Haem. punctata* – 97 (64), *Hyalomma marginatum* – 220 (110), *H. scupense* – 22 (18), *Ixodes ricinus* – 35 (29). При этом основной переносчик вируса ККГЛ на территории РИ – клещи *B. annulatus* составили 67,8 % от общего количества исследованных клещей. На долю клещей *H. marginatum*, являющихся основным резервуаром и переносчиком вируса ККГЛ в равнинных очагах, пришлось всего 4,3 %, причем, в 2008 г. *H. marginatum* составили 131 экз., в то время как за предыдущие три года – 89 экз.

В результате мониторинга, проведенного с 2005 по 2008 год, антиген вируса ККГЛ обнаружен в 62 пробах, составленных из клещей пяти видов: *B. annulatus* – 42 пула (из них 25 пулов в 2008 г.), *R. rossicus* – 12, *D. marginatus* – 4, *Haem. otophila* – 3, *H. marginatum* – 1. Все пулы были составлены из пивших особей. По фазам развития клещей положительные находки распределились следующим образом: имаго – 61 проба, нимфы – одна проба. Наибольшее количество положительных проб (5,5 %) выявлено в Назрановском районе, немного меньше (5,2 %) – в Сунженском районе, в Малгобекском районе – 2,7 %. Вирусоформность на территории РИ составила 0,19 % в 2005 г., 0,14 % – в 2006 г., в 2007 г. показатель вирусоформности увеличился до 1,4 %, а в 2008 г. снизился до 0,03 %.

При исследовании сывороток крови крупного рогатого скота (КРС) у 4,3 % обследованных коров выявлены специфические антитела класса G к вирусу ККГЛ. При этом в суспензиях клещей *B. annulatus*, снятых с трех из этих коров во время забора проб крови, обнаружен антиген вируса ККГЛ. В пробах сывороток крови мелкого рогатого скота (МРС) специфические антитела обнаружены в 13,3 % случаев. При исследовании проб сывороток крови домашних животных на наличие антигена вируса ККГЛ выявлены 44 положительные пробы у КРС (19,3 %) и три – у МРС (3,8 %). Следует отметить, что антиген обнаруживался в сыворотках крови животных в апреле – июле; а пробы, анализ которых проводился в сентябре, содержали специфические антитела к вирусу ККГЛ.

В июне 2007 г. на территории Сунженского района и в апреле 2008 г. на территории Малгобекского района после двухлетнего отсутствия в РИ вновь зарегистрированы и лабораторно подтверждены два случая заболевания КГЛ, закончившиеся летальным исходом. Методом ОТ-ПЦР в сыворотках крови была выявлена РНК вируса ККГЛ. Дальнейшее исследование на наличие специфических антител не проводилось, т.к. больные умерли.

Для оценки уровня естественной иммунизации населения с 2005 г. исследовались сыворотки крови доноров на наличие антител к вирусу ККГЛ. В период с 2005 по 2008 год при лабораторном исследовании 121 сыворотки крови доноров в трех (2,5 %) были обнаружены антитела класса G в титрах 1:800

(одна) и 1:1600 (две сыворотки).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что территория предгорно-степной ландшафтной зоны Республики Ингушетия эндемична по Крымской геморрагической лихорадке. Это подтверждено выявлением антигена и РНК вируса ККГЛ у больных, иксодовых клещей разных видов, обнаружением у сельскохозяйственных животных антигена вируса ККГЛ и антител к нему. Выявление антител в крови доноров (практически здоровых людей, проживающих в предгорной зоне РИ) также косвенно подтверждает наличие природной очаговости КГЛ на данной территории.

Проявления КГЛ в предгорной зоне имеют характерные особенности, которые связаны, в первую очередь, с отсутствием здесь или наличием в малом количестве клещей рода *Hyalomma*. Следствием особенностей функционирования природного очага КГЛ в предгорной зоне РИ является другой тип сезонности эпидемических проявлений. На равнинных территориях заболевания людей приурочены в основном к фенологии клещей рода *Hyalomma* и имеют пик в конце весны – середине лета. В предгорной зоне природного очага КГЛ нет выраженного весенне-летнего максимума эпидемической активности, и заболевание людей возможно в течение всего теплого времени года, в том числе и осенью. Полученные данные свидетельствуют о необходимости включения территории предгорных степей Республики Ингушетия в нозоареал Крымской геморрагической лихорадки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и особенности ее клиники на территории России и сопредельных стран. Вopr. вирусол. 2001; 4:7–15.
2. Василенко Н.Ф., Афанасьев Е.Н., Санникова И.В., Емельянова И.Н. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае в 2002 г.: лабораторная диагностика. Пробл. особо опасных инф. 2003; 86:139–48.
3. Василенко Н.Ф., Тюменцева И.С., Ефременко В.И., Афанасьев Е.Н. Вирусный гепатит А, Крымская геморрагическая лихорадка: современные аспекты эпидемиологии и лабораторной диагностики. Ставрополь, 2004. 160 с.
4. Вышемирский О.И., Петров В.А., Бутенко А.М., Жуков М.Ю., Щелканов М.Ю., Краснова Е.М. и др. Выделение вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки от больного человека в Волгоградской области летом 2000 г. Вopr. вирусол. 2001; 4:21–2.
5. Колобухина Л.В., Евченко Ю.М., Вышемирский О.И., Сысолятина Г.В., Громашевский В.Л., Алексеева О.И. и др. Изоляция трех штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки от больных в Ставропольском крае во время эпидемической вспышки в 2000 г. Вopr. вирусол. 2001; 4:15–8.
6. Онищенко Г.Г., Ефременко В.И., Евченко Ю.М., Григорьев М.П., Санникова И.В., Солодовников Б.В. и др. Вспышка Крымской геморрагической лихорадки в республике Ингушетия. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 4 (Приложение):67–70.
7. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Москвина Т.М., Аушев И.Д., Картюев А.А., Келли Е.И. и др. Выявление циркуляции вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в предгорных степях Северного Кавказа. Вopr. вирусол. 2005; 5:9–15.
8. Acute haemorrhagic fever syndrome, Afghanistan. Wkly Epid. Rec. 2000, 75(25):201.
9. Crimean-Congo haemorrhagic fever, Kosovo. Ibid. 2001; 76(27):205.
10. Crimean-Congo haemorrhagic fever, South Africa. Ibid. 1996; 75(50):381–2.
11. Williams R.J., Al-Busaidy S., Mehta F.R. et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate Oman. Trop. Med. Int. Health. 2000; 5(2):99–106.

Об авторах:

Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Варфоломеева Н.Г., Орлова Т.Н., Исмаилова Г.К., Григорьев М.П., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Картюев А.А., Комурзов Б.Д. Управление Роспотребнадзора по Республике Ингушетия. 386101, Назрань, ул. Московская, 39. E-mail: dolioing@southnet.ru

A.A.Kartoev, N.F.Vasilenko, O.V.Maletskaia, N.G.Varfolomeeva, T.N.Orlova, G.K.Ismailova, M.P.Grigor'eva, B.D.Komurzoev, A.N.Kulichenko

Studying of Crimean Hemorrhagic Fever Natural Focality in the Republic of Ingushetia

Stavropol Anti-Plague Research Institute; Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Ingushetia, Nazran

Presented are the results of epizootiological and epidemiological monitoring of Crimean hemorrhagic fever (CHF) in the territory of the Republic of Ingushetia. 6 cases of CHF were registered and confirmed during 5 years

(2004–2008), 3 (50 %) of them being fatal. 5 species of ixodic ticks were shown to be infected with Crimean hemorrhagic fever virus of which 67,7 % were ticks *Boophilus annulatus*. CHF virus antigen and specific antibodies were detected in great and small cattle. Specific antibodies in titres 1:800 – 1:1600 were found in blood serum of donors. Data received confirmed the presence of CHF natural focus in the territory of the Republic of Ingushetia.

Key words: Crimean hemorrhagic fever, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, natural focus, ixodic ticks, *Hyalomma marginatum*, *Boophilus annulatus*.

Authors:

Vasilenko N.F., Maletskaia O.V., Varfolomeeva N.G., Orlova T.N., Ismailova G.K., Grigor'eva M.P., Kulichenko A.N. Stavropol Anti-Plague Research Institute. 355035, Stavropol, Sovetskaya St., 13–15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Kartoev A.A., Komurzoev B.D. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Ingushetia. 386101, Nazran, Moskovskaya St., 39. E-mail: dolioing@southnet.ru

Поступила 09.04.09.

Т.А.Малюкова, Е.Ю.Лоцманова, А.В.Бойко, Л.А.Тихомирова, Е.В.Растунцева, З.С.Юсупова,
Е.В.Сазанова

ПРОФЕССИОНАЛЬНО ВАЖНЫЕ КАЧЕСТВА ПЕРСОНАЛА, ДОПУСКАЕМОГО К РАБОТАМ С ПБА I–II ГРУПП

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

Существенным моментом для отбора кадров и оценки надежности их профессиональной деятельности является выделение профессионально важных качеств (ПВК). Использование методов аналитической профессиографии и экспертных оценок позволило определить перечень ПВК персонала, допускаемого к работе с ПБА I–II групп

Ключевые слова: биобезопасность, профессионально важные качества, надежность профессиональной деятельности, патогенные биологические агенты, подготовка персонала.

Профессиональная подготовка персонала, деятельность которого связана с высоким риском контакта с патогенными биологическими агентами (ПБА) I–II групп¹ или проведением непосредственных манипуляций с ними [1], должна базироваться на комплексном подходе, включающем отбор при приеме на работу, образовательный процесс, медицинские профилактические мероприятия, а также оценку надежности деятельности каждого сотрудника и коллектива в целом [6, 7]. Основанием для этого является необходимость обеспечения высокой профессиональной надежности, способствующей минимизации риска возникновения технологических ошибок, несанкционированных действий по вине персонала, быстрому принятию решений и безотлагательному реагированию на изменения обстановки в аварийных и чрезвычайных ситуациях [4, 8], а следовательно, гарантии биобезопасности на разных уровнях (индивидуальной, населения, окружающей среды). Профессиональная надежность работника – это характеристика, отражающая реализуемую в профессиональной деятельности способность выполнять предписанные должностные функции при условии соответствия профессионального здоровья требованиям к профессиональной деятельности [4].

В организациях, использующих в своей деятельности потенциально опасные технологии, в том числе ПБА, должно быть создано психофизиологическое обеспечение профессиональной деятельности на основе профессионального отбора и психофизиологического сопровождения работы персонала. Одним из основных мероприятий этой целостной системы является оценка наличия и выраженности профессионально важных качеств (ПВК). Однако это не предусмотрено действующими национальными нормативами в области биобезопасности и непрерывного профессионального образования специалистов, допускаемых к работе с ПБА [1].

Цель работы – определение базовых ПВК для персонала, получающего допуск к работе с ПБА.

Профессионально важные качества – совокуп-

ность психологических качеств личности, а также ряд физических, антропометрических, физиологических характеристик человека, которые определяют успешность профессионального обучения и реальной профессиональной деятельности [2].

Материалы и методы

Методы исследования – аналитическая профессиография [3], метод экспертных оценок [4, 5].

На первом этапе исследований ПВК определяли на базе оценки личностных, сенсорно-перцептивных, интеллектуальных и моторных компонентов деятельности «идеального» сотрудника, допускаемого к работе с ПБА. Оценка проводилась с учетом результатов анализа нормативных документов, регламентирующих обеспечение биобезопасности при проведении работ с ПБА, в части требований к персоналу [1] и профессиограмм. Для исследования были выделены следующие группы работников, различающиеся по должностным обязанностям: дезинфекторы, лаборанты, врачи-бактериологи, научные сотрудники, административные работники. Параллельно составляли перечень качеств, неприемлемых для лиц, допускаемых к работе с возбудителями инфекционных болезней.

На втором этапе для каждой из выделенных групп работников проведено ранжирование рассмотренных ранее ПВК с последующим обозначением 10–15 базовых качеств.

В работе принимали участие 7 экспертов: административные работники (2), научные сотрудники (4), врач-бактериолог (1).

Результаты и обсуждение

Рассмотрение *личностного компонента деятельности*, т.е. характеристики эмоциональной, волевой и мотивационной сфер, организаторских способностей, позволило выделить следующие ПВК: социальная компетенция, высокое чувство социальной ответственности; умение подчиняться требованиям, нормам; потребность достижения (четкие

¹Далее по тексту ПБА.

личные цели); стремление к постоянному личному росту; адекватная самооценка; принципиальность; честность; самостоятельность; оптимизм; организованность; добросовестность; внутренняя дисциплинированность; настойчивость; терпеливость; усидчивость; спокойно-деловая реакция на опасность; стрессоустойчивость.

Несколько подробнее следует остановиться на «стрессоустойчивости». Любая профессиональная деятельность связана с каким-либо риском, необходимостью преодоления трудностей, неблагоприятных влияний окружающей среды и т.д. Обобщенно особенности профессионала, благодаря которым он их преодолевает, могут быть названы стрессоустойчивостью личности. Стрессоустойчивость представляет собой многоуровневую систему [3]. Вершиной и, несомненно, самым необходимым при работе с ПБА качеством является *нравственно-психологическая устойчивость*, которая определяет все другие формы устойчивости, в т.ч. и в отношении физических факторов окружающей среды. Велика роль *эмоциональной устойчивости*, которая включает *эмоционально-моторную* и *эмоционально-сенсорную устойчивость* (устойчивость к неадекватным реакциям коллег на производственные отношения). Самостоятельное значение, а также как центральный компонент всех видов устойчивости, имеет *мнемическая устойчивость* (запоминание, хранение и воспроизведение образов, мыслей, сведений, необходимых для трудового процесса). Память (устойчивость мнемических функций) выступает как стержень, основа устойчивости деятельности, особенно при осложнении ситуации (аварии, чрезвычайные ситуации), и является достаточно постоянной особенностью личности, проявляющейся в профессиональной деятельности. Диагностика устойчивости мнемических функций в стрессовых условиях – прямой и эффективный путь оценки стрессоустойчивости личности, а следовательно, и надежности деятельности.

Наряду с выделением ПВК проводили определение качеств, неприемлемых для лиц, допускаемых к работе с возбудителями инфекционных болезней. Для всех групп работников актуальными оказались следующие качества: неумение подчиняться требованиям, нормам; пессимизм; боязнь неудачи, неуверенность в себе; неумение управлять собой; неорганизованность; недисциплинированность; безынициативность; безответственность; неспособность принимать решения; косность; уступчивость; склонность перекладывать ответственность на других; нечестность, склонность к сокрытию событий; скрытность; недобросовестность; низкая коммуникативность (неумение работать в группе; замкнутость; раздражительность; полярные реакции на опасность – от стопора до паники); суетливость; внушаемость.

Особо хотелось бы отметить отрицательное значение внушаемости. Значимость его, как общее правило, возрастает при повышении ответственности и сложности профессионального труда.

При рассмотрении *сенсорно-перцептивного компонента деятельности*, т.е. характеристики восприятия и внимания, в качестве ПВК выделены: высокое качество восприятия; достаточный уровень восприятия пространственных отношений и признаков объекта; оперативная память; устойчивость и концентрация внимания; объем, распределение и переключение внимания; устойчивость к концентрации внимания при длительной однообразной работе; достаточный уровень умственной работоспособности; достаточный темп психических процессов; точность работы; достаточная скорость работы; способность к работе в вынужденном темпе и при дефиците времени.

Третья группа выделенных ПВК относится к *интеллектуальному компоненту*, т.е. характеристике процессов обработки информации, принятия решения и т.п. По мнению экспертов, актуальным является определение следующих качеств: тип мышления (доминирующий способ мышления); доминирующий интерес; уровень базовых знаний, достаточных для выполнения должностных обязанностей; уровень интеллекта, соответствующий должностным обязанностям.

Необходимо кратко остановиться на характеристике некоторых понятий [5, 9].

Доминирующий или преобладающий способ мышления является устойчивой характеристикой личности. По этой особенности всех людей можно разделить на несколько типов, причем каждый из них характерен для людей разных профессий. Различают следующие типы: «приложение-процедура» – способность точно и пунктуально выполнять известные заранее процедуры (алгоритмы) решения поставленных задач; «приложение-диагностика» – способность замечать ошибки, отклонения от нормального течения процесса, осуществлять поиск причин ошибок; «приложение-регуляция» – способность рассматривать различные аспекты целостной системы с позиции обеспечения ее правильного и точного функционирования; «адаптация-анализ» – склонность анализировать ситуации, выделять существенное, предлагать новые решения; «адаптация-координация» – способность согласовывать цели и решения различных многочисленных задач одновременно, стремление к развитию и инновациям; «адаптация-формализация» – способность интерпретировать различные ситуации, умело приспосабливаться к обстоятельствам и другим людям, легко придавать новую форму различным мыслям и идеям; «производство-сила» – предпочтение при решении конкретных технических задач отдавать применению физической силы; «производство-ловкость» – предпочтение при решении конкретных технических задач отдавать использованию навыков ручного труда.

Уровнем базовых знаний, достаточным для выполнения должностных обязанностей, считается базовое образование. Различают следующие области базовых знаний: область базовых знаний № 1 –

общеобразовательные дисциплины; область базовых знаний № 2 – специальные дисциплины (среднее и высшее специальное образование).

Интересы людей разнообразны. По степени выраженности интересов всех людей подразделяют на разные типы личности. Каждый тип личности в наилучшей степени может выразить себя в определенной профессиональной среде. Ведущий, основной интерес обозначают как доминирующий интерес. В зависимости от доминирующего интереса выделяют следующие типы личности: «реалистический» – склонность к занятиям конкретными вещами и их использованием, ориентация на практический труд и быстрый результат деятельности; «исследовательский (интеллектуальный)» – сообразительность и наблюдательность, независимость и оригинальность, наличие нестандартного мышления и творческого подхода к делу, развитые умственные способности, выяснение множества деталей перед тем как дать заключение; «социальный» – активность, общительность, эмоциональность, чувствительность, развитые словесные способности, коммуникативность, желание взаимодействовать с людьми: обучение, информирование, обслуживание; «конвенциональный (стандартный)» – усидчивость, исполнительность, дисциплинированность, аккуратность, предпочтение ясным, четко сформулированным предписаниям, решению типичных задач.

Такие типы как «предпринимательский» и «артистический» не рассматриваются нами, т.к. не являются предпочтительными для обеспечения биобезопасности при проведении работ с ПБА I–II групп.

При рассмотрении *моторного компонента деятельности* в качестве ПВК при проведении манипуляций с ПБА были определены: точность движений; установка на скорость и надежность работы; высокая координация движений.

В ходе исследований экспертами была выделена особая группа – персонал, работающий с животными (разведение, уход за лабораторными животными, эпизоотологический мониторинг территорий). Кроме ПВК, перечисленных выше, они должны обладать дополнительными характеристиками: гуманное обращение с животными; наблюдательность; способность предвидеть и оценивать изменчивые природные факторы; способность работать в трудных погодных условиях.

Особо необходимо остановиться на актуальности определения *мотивационного профиля личности* при отборе претендентов на работу с ПБА, допуске к работе и оценке надежности профессиональной деятельности персонала. Среди психологических факторов, влияющих на безопасность труда, профессиональная мотивация занимает самое важное место [2]. Выраженная дифференциация побудительных сил и направленности поведения обуславливают необходимость их учета в системе формирования и оценки надежности профессиональной деятельности. Суммарные диагностические оценки относятся

к семи собственно мотивационным шкалам, составляющим мотивационный профиль личности [5]: 1) поддержание жизнеобеспечения, 2) комфорт, 3) социальный статус, 4) общение, 5) общая активность, 6) творческая активность, 7) общественная полезность.

Преобладание мотивов 1–3 определяют как тенденцию поддержания жизнедеятельности и нормального социального существования сотрудника, т.е. как потребительскую тенденцию. Группа мотивов 5–7 определяется как личностно развивающая или производительная тенденция.

В результате анализа можно выделить 5 основных типов мотивационного профиля. Предпочтительным, по мнению экспертов, для претендентов на должности лаборантов, врачей-бактериологов, научных сотрудников, руководителей является наличие *креативного профиля*, характеризующегося заметным превышением общего уровня развивающих мотивов над уровнем мотивов поддержания, или *экспрессивного профиля*, характеризующегося стремлением к самоутверждению путем выборочной дифференциации поддерживающих и развивающих мотивационных факторов.

Итак, в результате исследований, проведенных на первом этапе, были получены черты «идеального» сотрудника, допускаемого к работе с ПБА. Вместе с тем необходимо отметить, что ПВК, с одной стороны, являются предпосылкой профессиональной деятельности, а с другой – многие из них формируются и/или совершенствуются в процессе дополнительного профессионального образования, освоения и выполнения работ с ПБА.

Однако для формирования батареи тестов с целью идентификации ПВК необходимо было сузить их перечень до 10–15.

На втором этапе исследований группой экспертов проведено ранжирование рассмотренных ранее ПВК с последующим обозначением порядка 10 базовых качеств, которые характеризуются наибольшим структурным весом и, следовательно, занимают центральное место во всей системе качеств, для каждой из выделенных групп работников (таблица).

Всеми экспертами для всех групп работников в качестве ПВК были обозначены такие позиции как умение подчиняться требованиям, нормам; стрессоустойчивость; уровень интеллекта, соответствующий должностным обязанностям; уровень знаний, достаточный для выполнения должностных обязанностей; внутренняя дисциплинированность; организованность. Вместе с тем по ряду позиций экспертов необходимо дать пояснения.

Для группы врачей-бактериологов в качестве ПВК не был определен доминирующий способ мышления. Это обусловлено тем, что в ходе работы различными экспертами было отмечено 4 разных типа мышления, которые желательны для данной категории работников, что объясняется многогранностью должностных обязанностей.

Базовые ПВК персонала, допускаемого к работе с ПБА I–II групп

Базовые ПБА	Административные работники	Научные сотрудники	Врачи-бактериологи	Лаборанты	Дезинфекторы
Умение подчиняться требованиям, нормам	+	+	+	+	+
Доминирующий способ мышления	Адаптация-координация	Адаптация-анализ		Приложение-процедура	Приложение-процедура
Самостоятельность	+	+	+	+	
Спокойно-деловая реакция на опасность		+	+	+	+
Честность			+	+	+
Добросовестность			+	+	+
Стрессоустойчивость	+	+	+	+	+
Социальная компетенция, высокое чувство социальной ответственности	+				
Уровень интеллекта, соответствующий должностным обязанностям	+	+	+	+	+
Достаточный уровень умственной работоспособности	+	+	+		
Уровень знаний, достаточный для выполнения должностных обязанностей: область базовых знаний.	Область базовых знаний № 2	Область базовых знаний № 2	Область базовых знаний № 2	Область базовых знаний № 2	Область базовых знаний № 1
Внутренняя дисциплинированность	+	+	+	+	+
Способность к работе в вынужденном темпе и при дефиците времени	+	+		+	
Оперативная память	+	+	+		
Принципиальность	+	+			
Стремление к постоянному личному росту	+	+	+	+	
Организованность	+	+	+	+	+
Усидчивость			+	+	
Точность работы (выполнения задания)			+	+	+

Отсутствие для группы руководителей таких базовых ПВК как спокойно-деловая реакция на опасность, честность, добросовестность в полной мере компенсируется необходимостью наличия у них социальной компетенции и высокого чувства социальной ответственности, стрессоустойчивости, а также умения подчиняться требованиям, нормам. Отсутствие в группе базовых ПВК для научных сотрудников честности, добросовестности нивелируется такими качествами как умение подчиняться требованиям, нормам и принципиальность.

Отсутствие в перечнях ПВК не означает, что их не должно быть у работников: для научных сотрудников, врачей-бактериологов, лаборантов, дезинфекторов такой позиции как социальная компетенция; для лаборантов, дезинфекторов – достаточный уровень умственной работоспособности; для врачей-бактериологов, дезинфекторов – способность к работе в вынужденном темпе и при дефиците времени; для лаборантов, дезинфекторов – оперативная память; для врачей-бактериологов, лаборантов, дезинфекторов – принципиальность; для дезинфекторов –

стремление к постоянному личному росту; для административных работников, научных сотрудников, дезинфекторов – усидчивость; для административных работников, научных сотрудников – точность работы (выполнения задания). По мнению экспертов, недостаточная выраженность или отсутствие данных качеств в меньшей степени сказывается на надежности выполнения должностных обязанностей работниками данных категорий, а следовательно, на обеспечении биобезопасности работ с ПБА.

Материалы, изложенные выше, представляет собой обобщенные результаты работы экспертов, являющихся высококвалифицированными специалистами, имеющими не только большой стаж практической работы с ПБА I–II групп, но и опыт подготовки специалистов для работы с возбудителями особо опасных инфекций. Тем не менее авторы считают необходимым пригласить лиц, заинтересованных в разработке данной проблемы, поучаствовать в дискуссии, выразив свое мнение, замечания, предложения.

Таким образом, нами впервые проведена работа по выделению ПВК персонала, допускаемого к ра-

боте с ПБА I–II групп. Подбор валидных тестовых программ позволит идентифицировать данные качества у претендентов при приеме на работу, а также разработать подход к определению интегрального показателя оценки надежности работы персонала. Внедрение подобных разработок актуально и приоритетно для совершенствования нормирования подготовки специалистов, обеспечения биологической безопасности сотрудников, населения и окружающей среды, а также повышения конкурентоспособности работников и организаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила. СП 1.3.1285-03. Бюл. норм. и метод. док. госсанэпиднадзора. 2003; 3(13):61–144.
2. Бодров В.А. Психология профессиональной пригодности. М.: ПЕР СЭ, 2006. 511 с.
3. Гарбер Е.И., Казача В.В. Методика профессиографии. Саратов: Изд-во Саратов. Ун-та; 1992. 196 с.
4. Ипатов П.Л., Мартенс В.К., Сорокин А.В., Бобров А.Ф., Басов В.И. Профессиональная надежность персонала АЭС: Концепция и технология количественной оценки, практика управления. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2003. 232 с.
5. Истратова О.Н., Эксакусто Т.В. Справочник психолога-консультанта организации. Ростов н/Д: Феникс; 2006. 638 с.
6. Малиюкова Т.А., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Совершенствование подготовки персонала в целях обеспечения биобезопасности работ с патогенными биологическими агентами. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):33–8.
7. Онищенко Г.Г., Дроздов И.Г., Малиюкова Т.А. и др. Нормирование как элемент системы обеспечения безопасно-

сти работ с биологическими агентами I–II групп патогенности. Пробл. особо опасных инф. 2005; 2(90):5–11.

8. Регламент (стандарт) функционирования санитарно-противоэпидемических бригад (СПЭБ) при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера. Утв. Руководителем Федеральной службы Роспотребнадзора 22.11.2007.

9. Романова Е.С. 99 популярных профессий. Психологический анализ и профессиограммы. 2-е изд. СПб: Питер. 2007. 464 с.

Об авторах:

Малиюкова Т.А., Лоцманова Е.Ю., Бойко А.В., Тихомирова Л.А., Растунцева Е.В., Юсупова З.С., Сазанова Е.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел. (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

T.A.Malyukova, E.V.Sazanova, T.A.Kostyukova, E.M.Golovko, A.V.Boiko

Selection and Disinfection of Adsorbents Used for Transportation of Pathogenic Biological Agents

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Evaluated are available materials, having absorbability, in view of using them as adsorbents for transportation of pathogenic biological agents. Worked out is the way of their disinfection.

Key words: pathogenic biological agents, transportation of pathogenic biological agents, adsorbents disinfection.

Authors:

Malyukova T.A., Sazanova E.V., Kostyukova T.A., Golovko E.M., Boiko A.V. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 18.09.08.

В.М.Самыгин¹, Т.А.Гришкина², Л.К.Жога², А.Ю.Александров¹,
С.В.Редкозубов¹, Нгуен Тхи Нгок Минь¹

СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ОТ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АЭРОЗОЛЕЙ В УСТАНОВКАХ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

¹Волгоградский государственный технический университет,

²ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград

Представлена установка для культивирования микроорганизмов, оснащенная системой защиты окружающей среды от ферментационных выбросов. Установка помещена в бокс безопасности, оборудована вакуумным насосом, герметичными клапанами трубопроводов и последовательно соединенными емкостями с дезинфицирующими растворами. Приведены экспериментальные данные по сравнительной оценке инактивирующей способности табельных дезинфицирующих средств в отношении бактериальных аэрозолей при глубинном культивировании микроорганизмов.

Ключевые слова: бактериальные аэрозоли, установка для культивирования микроорганизмов, система защиты, биологическая безопасность.

Решение проблем инфекционной патологии во многом зависит от разработки и использования эффективных иммунобиологических препаратов, предназначенных для диагностики и профилактики инфекционных заболеваний. Современное производство таких препаратов обусловлено свойствами штаммов-продуцентов целевого продукта, лежащего в основе конструирования препарата, а с другой стороны, определяется особенностями биотехнологических процессов, начиная с этапа выращивания микроорганизмов. В качестве исходного сырья при производстве целевого продукта используют непатогенные, аттенуированные или вакцинные штаммы бактерий. К настоящему времени получены и используются вакцинные штаммы бактерий чумы, туляремии, бруцеллеза и сибирской язвы, тогда как у целого ряда других микроорганизмов такие штаммы до сих пор не созданы.

Для получения биомассы микроорганизмов или продуктов микробного синтеза предложены серийные установки (ферментеры, ферментаторы, реакторы), конструкции которых ориентированы, главным образом, на повышение эффективности и экономичности биотехнологического процесса и обеспечение условий, исключающих контаминацию штамма-продуцента посторонней микрофлорой. Процесс культивирования бактерий в таких установках ведется в жидкой питательной среде в условиях непрерывной принудительной аэрации и избыточного давления. Для повышения эффективности биотехнологического процесса применяется пульсационная подача аэрирующего воздуха [5], а для повышения стерильности процесса культивирования в установках создается избыточное давление, при этом постоянный поток отработанной газовой смеси исключает возможность проникновения в емкость не стерильного воздуха [2].

С целью защиты окружающей среды от ферментационных выбросов установки снабжают системой аварийного переключения потоков газа, содержащей

связанный трубопроводом с ферментером ресивер газа и подключенные к нему байпасные трубопроводы с клапанами, соединяющие входные и выходные патрубки для воздуха стерилизаторов, а также стерилизатором конденсата [7]. Однако чаще для защиты используют фильтрующие системы очистки. Известны системы бактериальной защиты установок, оборудованные в виде чехла, представляющего собой бактериальный фильтр тонкой очистки (ФТО) из двухслойной фильтрационной бумаги с проложенной между слоями тканью Петрянова, и адсорбера, расположенного на линии выхода газа из половолоконного мембранного аппарата [6]. В некоторых установках для культивирования микроорганизмов системы защиты окружающей среды от ферментационных выбросов практически отсутствуют [4].

Известные системы защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей, образующихся в результате насыщения бульонной культуры кислородом или газообразной смесью, имеют определенные недостатки. Применение наиболее распространенных фильтров тонкой очистки ограничено прочностью, сопротивлением и нормативными значениями коэффициента проницаемости фильтрующего материала, а также перепадом давлений, возникающим в процессе работы, и повреждениями, которые тотчас же не всегда можно установить. Кроме того, фильтры тонкой очистки малоэффективны для отделения мелких частиц, таких как вирусы и риккетсии, но нуждаются в специальной обработке (автоклавировании) или замене после адсорбции на их поверхности бактериальных клеток. А выращивание микробов в ферментерах при избыточном давлении напрямую сопряжено с реальной биологической угрозой вследствие образования мельчайших бактериальных аэрозолей и попадания аэрозольных частиц из культурального сосуда в окружающую среду. Поэтому использование ФТО в условиях избыточного давления ограничено и категорически недопустимо в установках при работе с возбудителями опасных инфекционных за-

болеваний [1].

Проблема биологической безопасности процессов культивирования патогенных микроорганизмов отчасти может быть решена за счет использования установок, в которых выращивание бактерий происходит в культуральном сосуде при более низком, по сравнению с атмосферным, давлении, а внесение инокулята и отбор проб биологического материала в процессе и по окончании работы осуществляется за счет создаваемой разницы давления между сосудами. Это обеспечивается благодаря оснащению установок вакуумным насосом, позволяющим регулировать давление воздуха, клапанами и системой очистки отработанного воздуха [3]. Безусловно, использование подобного принципа существенно снижает вероятность биологической угрозы при осуществлении биотехнологических процессов, однако для оценки эффективности очистки воздуха от образующихся бактериальных аэрозолей необходимы экспериментальные исследования.

Целью исследования явилось совершенствование средств и методов защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей в установках для культивирования микроорганизмов.

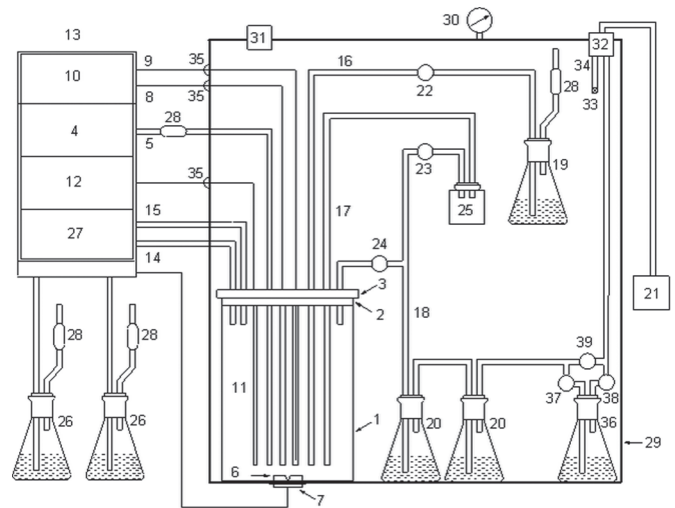
Материалы и методы

В работе использовали референтный индикаторный штамм *Serratia marcescens* 9, а в заключительной серии опытов *Yersinia pestis* ЕВ-НИИЭГ из коллекционного центра Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, которые выращивали на питательных средах на основе перевара по Хоттингеру, pH 7,2, с содержанием аминного азота 120 мг% и добавлением 1 % галактозы. Аппаратное культивирование осуществляли в лабораторной установке с объемом культурального сосуда 400 мл.

Индикаторную культуру засеивали в ферментер из расчета 10^8 кл/мл и выращивали глубинным методом в условиях непрерывной аэрации в течение 18–20 ч. Аэрацию питательной среды осуществляли путем подачи воздуха и перемешивания магнитной мешалкой. Расход используемого для аэрации воздуха составил 1 л/мин, что является максимальным для данной установки, скорость вращения мешалки – 400 об/мин. Концентрацию биомассы в процессе роста культуры определяли с помощью стандартного образца мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича.

Результаты и обсуждение

Для защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей разработана и использована лабораторная установка [8], состоящая из культурального сосуда 1 с пробкой 2 и крышкой 3, компрессора 4, патрубком 5 для подачи воздуха в культуральный сосуд, перемешивающего устройства, включающего импеллер 6 и магнитный привод 7 (рисунок). В крышку



Система защиты от бактериальных аэрозолей в установках для культивирования микроорганизмов

культурального сосуда вмонтированы цилиндрические кожухи для нагревательного элемента 8 и термистора 9, связанные с термостатирующим устройством 10; pH-электрод 11, подключенный к pH-метру (в комплекте установки) 12, объединенному с компрессором 4 и термостатирующим устройством 10 в блок управления 13. В крышку вмонтированы также патрубки 14, 15, 16, 17, 18 соответственно для подачи в культуральный сосуд корректирующих растворов, внесения инокулята из инокулятора 19, отбора проб и выхода отработанного воздуха. Патрубок 18 для отбора отработанного воздуха из культурального сосуда ферментера соединен с емкостями 20 с дезинфицирующим раствором и вакуумным насосом МПВ-5 (Польша) 21. Патрубки снабжены клапанами 22, 23, 24 соответственно для регулирования внесения инокулята, отвода отработанного воздуха или отбора проб в пробоотборник 25, который служит также и для отбора конечного продукта после окончания культивирования. Каждая из содержащих корректирующий раствор емкостей 26 соединена патрубками 14, 15 с перистальтическим насосом 27, находящимся в блоке управления 13. В пробках емкостей 26 с корректирующими растворами и инокулятора 19, а также в патрубке 5 для подачи воздуха в культуральный сосуд установлены фильтры очистки воздуха 28 на основе спеченных никелевых порошков, фторопласта, керамики или другого пористого материала. Установка снабжена фабрично изготовленным и сертифицированным боксом безопасности ББП-1-ПЖ, оборудованным автономной системой приточно-вытяжной вентиляции и фильтрами тонкой очистки воздуха, проверенными на защитную эффективность. Бокс безопасности 29 оснащен манометром 30, входным 31 и выходным 32 фильтрами тонкой очистки воздуха соответственно, которые выполнены из того же материала, что и фильтры очистки воздуха, подаваемого в культуральный сосуд ферментера. Фильтр 32 является общим для очистки воздуха из культурального сосуда и бокса 29 и имеет регулирующее устройство 33

на патрубке 34, которое позволяет создавать перепад давления между полостью культурального сосуда и внутренним пространством бокса. На боковой стороне бокса безопасности установлены герметичные разъемы электрокоммуникаций 35. Скорость воздушного потока в проеме бокса составляет 0,4–0,75 м/с, а разрежение в боксе – 20 мм водяного столба по отношению к помещению лаборатории.

В качестве защитной системы окружающей среды от ферментационных выбросов в установке использовали последовательно соединенные емкости 20 с растворами различных дезинфицирующих средств, через которые барботировали отработанный при аэрации бульона воздух. Для абсорбции и обеззараживания бактериальных аэрозолей в системе установки в качестве дезинфицирующих средств были испытаны в регламентированных и более высоких концентрациях хлорамин, активированный раствор перекиси водорода и формальдегид, являющиеся табельными средствами в отношении микроорганизмов I–II групп патогенности [1].

Для бактериологического контроля воздуха между емкостями с дезинфицирующим раствором 20 и выходным фильтром 32 бокса безопасности к вакуумному трубопроводу подключали импинжер 36 через клапаны 37, 38, 39, представляющий контрольный сосуд с 300 мл бульона Хоттингера. Воздух через контрольный бульон барботировали в течение 10 мин, 30 мин, 2 ч с момента достижения бактериальной культурой стационарной фазы или с начала и на протяжении всего процесса выращивания (18–20 ч). Затем импинжер помещали на сутки в термостат при 28 °C и делали из бульона высевы на 3 чашки с агаризованной питательной средой. Чашки инкубировали в течение 2 сут при 28 °C и еще 2 сут при комнатной температуре, ежедневно просматривая на наличие характерных колоний тест-культуры. Каждую из проб воздуха отбирали и исследовали четырехкратно.

Контролирующие приборы, культуральный сосуд, инокулятор и пробоотборник, а также система очистки воздуха помещены в бокс безопасности. Вне бокса безопасности расположены вакуумный насос, емкости с корректирующими растворами, магнитный привод и блок управления процессом культивирования.

Установка работает следующим образом. Культуральный сосуд заполняют питательной средой с инокулятом за счет разницы давления между культуральным сосудом и инокулятором, создаваемой с помощью вакуумного насоса. Для этого открывают клапаны 22 и 24, а клапан 23 оставляют закрытым. С помощью регулирующего устройства 33 на патрубке 34 фильтра 32 перекрывают поступление воздуха из внутреннего пространства бокса безопасности 29, повышая таким образом разрежение в культуральном сосуде. После перекачивания инокулята в культуральный сосуд клапан 22 закрывают, а регулирующее устройство приводят в исходное положение (от-

крывают). Затем в культуральный сосуд подают воздух, который стерилизуется, проходя через фильтр 28. Для обеспечения биологической безопасности расход воздуха, подаваемого компрессором и откачиваемого вакуумным насосом, регулируют таким образом, чтобы разрежение в полости культурального сосуда в процессе работы поддерживалось на уровне 5 мм водяного столба. С помощью термостатирующего устройства и pH-метра задают необходимые значения температуры и pH. Контроль pH внутри сосуда осуществляют с помощью pH-электрода, сигнал с которого подается на перистальтический насос для подачи корректирующих растворов (0,1 М растворы соляной кислоты или гидрата окиси аммония), согласно заданным параметрам. Перемешивание бульонной культуры производят, включая магнитный привод мешалки.

Отбор проб воздуха осуществляют аспирационно-сорбционным методом, причем в импинжер воздух поступает за счет вакуумного насоса 21 при изменении положения клапанов 37, 38 и 39. Воздух барботируют через питательный бульон, открывая клапаны 37, 38 при закрытом клапане 39.

Отбор проб бульонной культуры осуществляют путем открытия клапана 23 и закрытия клапана 24, а также за счет перераспределения потоков воздуха, откачиваемого из полости культурального сосуда и бокса безопасности, перекрывая регулирующее устройство 33 на патрубке 34 фильтра 32. Пробы отбирают из культурального сосуда в пробоотборник, который затем заменяют новым. После отбора проб регулирующее устройство и клапаны 23 и 24 приводят в исходное положение (клапан 24 открывают, а клапан 23 закрывают). По окончании работы аналогичным образом производят перекачивание конечного продукта (бульонной культуры), заменяя пробоотборник емкостью большего объема, отключают компрессор, перемешивающее устройство, термостатирующее устройство и pH-метр. Вакуумный насос отключают в последнюю очередь.

Находящееся внутри бокса безопасности оборудование помещают в металлические контейнеры для последующего автоклавирувания. Внутренние поверхности бокса безопасности обрабатывают 4 % раствором формалина с последующей нейтрализацией его аммиаком.

В процессе экспериментальной работы установлено, что размножение индикаторного штамма *Serratia marcescens* при глубинном культивировании начиналось через 3–4 ч и продолжалось до 18–20 ч с момента посева материала. При этом максимальная концентрация биомассы (М) достигала $(5–8) \cdot 10^9$ м.к./мл, удельная скорость роста (μ) бульонной культуры составила $0,27 \text{ ч}^{-1}$, время генерации (t_d) – 2,57 ч, число клеточных делений (n) – 13,8.

Степень инактивации бактериальных аэрозолей в процессе культивирования зависела, прежде всего, от используемого дезинфицирующего средства и его концентрации. Оказалось, что в регламентирующих

Эффективность инактивации бактериальных аэрозолей в установке для культивирования микроорганизмов при выращивании *S. marcescens*

Продолжительность барботирования воздуха через контрольный бульон	Объем прокаченного воздуха, л	Используемый дезинфектант								
		хлорамин, %			перекись водорода, %			формалин, %		
		3	6	10	3	6	10	3	6	10
10 мин	10	100*	100	75	100	75	75	100	25	0
30 мин	30	100	100	75	100	75	75	100	25	0
2 ч	120	100	100	100	100	100	100	100	50	0
18–20 ч	1080–1200	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Обозначения: *) – число проб (в %), в которых обнаружена индикаторная культура; (–) – исследования не проводились.

действующими документами концентрация ни одно из испытанных дезинфицирующих средств не обеспечивало надежной защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей (таблица).

Используемый в виде 3 и 6 % раствора хлорамин не проявлял стерилизующего эффекта, и бактерии чудесной палочки обнаруживали во всех исследуемых пробах не зависимо от продолжительности барботирования воздуха через контрольный бульон. С увеличением концентрации хлорсодержащего реагента до 10 % бактерии не обнаруживали лишь в отдельных пробах, через которые воздух барботировали в течение 10 и 30 мин. При увеличении объема прокачиваемого воздуха индикаторную культуру удавалось выделить из всех четырех отобранных проб контрольного бульона.

Подобные результаты получены при оценке антибактериальной активности перекиси водорода. Разница заключалась лишь в том, что 6 % раствор этого дезинфектанта, по сравнению с хлорамин, обладал более выраженным антибактериальным действием в отношении штамма *S. marcescens*. Оснащение очистной системы установки дополнительной емкостью с любым из двух испытанных дезинфицирующих растворов в 10 % концентрации не обеспечивало полной инактивации бактериальных аэрозолей, хотя до половины сокращало число проб, из которых удавалось выделять индикаторную культуру.

Из трех испытанных дезинфицирующих средств наиболее перспективным оказался формалин. Несмотря на то, что в 3 % концентрации этот препарат не проявлял выраженной антибактериальной активности на аэрозоли, двукратное увеличение в растворе действующего вещества приводило к тому, что, по крайней мере, у половины из исследованных проб обнаружить индикаторную культуру не удавалось. А при сокращении времени барботирования воздуха от 2 ч до 30 и 10 мин бактерии выделяли лишь из каждой четвертой отобранной пробы контрольного бульона. Более того, 10 % раствор формалина уже при комнатной температуре (20–25 °C) обладал выраженным стерилизующим эффектом, что приводило к полной инактивации бактериальных аэрозолей на протяжении всего процесса культивирования. Аналогичные данные получены при проведении ограниченных опытов с 10 % формалином

на вакцинном штамме чумного микроба, в результате которых иерсинии так же не удавалось выделять из проб контрольного бульона при барботировании воздуха в течение 18–20 ч.

Известно, что для обеззараживания биологических и иных объектов используют различные дезинфицирующие вещества, обозначенные в нормативных документах [1]. Перечень конкретных дезинфектантов по отношению к объектам, концентрация, норма расхода и способ применения определяются биологическими свойствами микроорганизма и, в первую очередь, его способностью к спорообразованию в неблагоприятных условиях окружающей среды. Продолжительность обеззараживания инфицированных объектов, согласно нормам, составляет не менее 15–30 мин, достигая в некоторых случаях 48 ч. Однако при барботировании воздуха, содержащего бактериальные частицы, контакт между микробной клеткой в очистной системе и дезинфицирующим средством в силу технологических особенностей существенно ниже указанного интервала времени. Именно это обстоятельство, по-видимому, объясняет в большинстве случаев низкую антибактериальную эффективность используемых дезинфектантов. С другой стороны, несмотря на кратковременное воздействие на клетки, 10 % раствор формалина обеспечивал высокую защитную эффективность установки на протяжении всего биотехнологического цикла. Можно предполагать, что в этих случаях полная инактивация бактерий достигалась главным образом за счет высокой, по сравнению с хлорамин и перекисью водорода, летучести формалина, пары которого воздействовали на бактерии внутри трубопроводов за пределами очистной системы установки. Вместе с тем содержание формалина (по формальдегиду) в очистной системе установки в начале и в конце культивирования практически не изменялось.

Таким образом, использование ферментеров, помещенных в бок безопасности и оснащенных вакуумным насосом, герметичными клапанами трубопроводов, а также системой очистки отработанного воздуха, состоящей из последовательно соединенных емкостей с 10 % раствором формалина, обеспечивает высокую степень биологической безопасности и может быть рекомендовано для глубинного выращивания микроорганизмов различной степени патогенности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285-03. М.: Минздрав России; 2003.
2. Бондаренко А.Ф., Родичкин В.И. Аппарат для суспензионного выращивания культур клеток. Патент RU 1405296 С. Оpubл. 1995.07.09.
3. Владимцева И.В., Самыгин В.М., Жога Л.К. и др. Установка для культивирования микроорганизмов. – Патент на изобретение № 2292387 по заявке № 2005108254 RU 2 292 387 С2 *C12M 1/00* (2006.01) *C12M* (2006.01). Оpubл. 27.01.2007. Бюлл. № 3.
4. Инструкция по эксплуатации установки Bioflo, model C 30, фирмы «Brunswick», США, 1976.
5. Корнеев А.Д., Алибеков К.Б., Жженова А.В. и др. Способ культивирования микроорганизмов и аппарат для его осуществления. Патент RU 2008347 С1. Оpubл. 1994.02.28.
7. Марквичев Н.С., Коростелев В.В., Манаков М.Н. и др. Установка для культивирования клеток или микроорганизмов. – Патент RU 2005778 С1. Оpubл. 1994.01.15.
8. Нестеров Б.Ф., Смолин Б.И., Горячев В.В. Установка для культивирования микроорганизмов. А.с. СССР 1143774 А. Оpubл. 07.03.85. Бюлл. № 9.
9. Самыгин В.М., Владимцева И.В., Гришкина Т.А. и др. Конструкция установки для глубинного культивирования аэробных патогенов. Биотехнология. 2008; 2:65–8.

Об авторах:

Самыгин В.М., Александров А.Ю., Редкозубов С.В., Нгуен Тхи Нгок Минь. Волгоградский государственный технический университет. 400131, Волгоград, пр. Ленина, 28. Тел.: (844-2) 23-00-76. E-mail: rector@vstu.ru

Гришкина Т.А., Жога Л.К. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. Тел.: (844-2) 37-37-74. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

V.M.Samygin, T.A.Grishkina, L.K.Zhoga, A.Yu.Alexandrov,
S.V.Redkozubov, Nguen Tkhi Ngok Min

System of Environmental Protection from Bacterial Aerosols in Propagators for Microorganisms Cultivation

*Volgograd State Technical University;
Volgograd Anti-Plague Research Institute*

Presented is propagator equipped with environmental protection system against fermentation releases. The unit supplied with vacuum pump, airproof pipeline valves and a series of sequentially connected tanks with disinfectant solutions is placed in a safety box. Shown are the experimental data on comparative evaluation of inactivation properties of authorized decontamination materials as for bacterial aerosols at submerged cultivation of germs.

Key words: bacterial aerosol, propagator, safety system, biological safety.

Authors:

Samygin V.M., Alexandrov A.Yu., Redkozubov S.V., Nguen Tkhi Ngok Min. Volgograd State Technical University. 400131, Volgograd, Pr. Lenina, 28. E-mail: rector@vstu.ru
Grishkina T.A., Zhoga L.K. Volgograd Anti-Plague Research Institute. 400131, Volgograd, Golubinskaya St., 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 13.03.09.

Н.В.Сахно

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА «ЛИЗОЦИМ-АНТИЛИЗОЦИМ»
ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ ОРГАНИЗМА БЛОХ И ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ**

ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь

Показано, что одним из факторов естественной неспецифической защиты у блох является лизоцим. Лизоцим обнаружен у разных видов блох грызунов. Наряду с этим доказана антилизоцимная активность некоторых штаммов возбудителя чумы.

Ключевые слова: блоха, возбудитель чумы, лизоцим, антилизоцимная активность.

В настоящее время все более актуальным является накопление фундаментальных знаний, выявляющих эволюционно сложившиеся взаимоотношения возбудителей природно-очаговых болезней с беспозвоночными хозяевами в определенных условиях среды. Наиболее ярким отражением совместного функционирования системы «паразит-хозяин» являются свойства самого паразита, обеспечивающие его существование в пространстве и времени в конкретных популяциях и условиях.

В связи с избирательной выживаемостью возбудителя чумы в организме отдельных видов блох, вплоть до образования блока, практически неизученным является значение универсальной системы «лизоцим-антилизоцим» во взаимодействии чумного микроба и переносчика.

Несомненно, важным моментом во взаимоотношениях чумного микроба с организмом членистоногих переносчиков является влияние организма блохи на бактерии чумы.

Уже в первые часы после заражения блох чумой в желудочно-кишечном тракте происходит значительное отмирание бактерий. Их число уменьшается в 100–1000 раз [1]. Предполагается, что снижение числа микробных клеток возникает под воздействием «бактерицидного вещества» неизвестной природы, возможно и под воздействием лизоцима [2, 5, 7].

В последние два десятилетия все больше привлекает внимание во взаимоотношении бактериальных патогенов и организма животного не только факторы «нападения» паразита, но и факторы «обороны» у патогенов [3].

Установлено, что бактериальные клетки патогенов в ответ на воздействие неспецифических факторов защиты организма (лизоцим, комплимент, интерферон и др.) вырабатывают факторы, инактивирующие защиту хозяина, проявляя антилизоцимную активность.

Предполагается, что именно этот набор факторов срабатывает как дистанционный механизм бактериального уклонения и способствует длительному выживанию патогенных и условно-патогенных бактерий.

Е.Н.Павловский [6] указывал, что правильное понимание взаимоотношения возбудителей болезней теплокровных с организмом членистоногих переносчиков имеет принципиальное значение для решения многих сложных вопросов в явлении природной очаговости болезней.

Материалы и методы

Нами изучено содержание лизоцима в желудочно-кишечном тракте и гомогенате пивших блох 11 видов, выращенных в условиях инсектария лаборатории медицинской паразитологии ФГУЗ СтавНИПЧИ: *Ctenophthalmus wagneri* Tiff., *C. golovi* Ioff et Tifl., *C. secundus* Wagn., *C. orientalis* Wagn., *Frontopsylla luculenta* J. et R., *Citellophilus tesquorum* Wagn., *Nosopsyllus consimilis* Wagn., *N. mokrzejczy* Wagn., *N. fasciatus* Bosc., *N. laeviceps* Wagn., *Xenopsylla cheopis* Roths.

На твердую питательную среду (агар Хоттингера, pH 7,2–7,4) в чашках Петри, засеянных индикаторной культурой *Micrococcus lysodeikticus* 2665 после суточного роста, бактериальной петлей наносили эмульсию, приготовленную в капле 0,9 % раствора натрия хлорида из 1 особи при индивидуальном исследовании, из 50 особей при групповом исследовании, а также из желудочно-кишечных трактов пивших блох. Контролем служили посевы индикаторного штамма бактерий, на которые наносили петлей лизоцим куриного белка. Учет результатов проводили через 24 ч после содержания посевов в термостате при температуре 37 °C. Результат считали положительным, если на месте нанесения капли эмульсии из блох на газоне с *M. lysodeikticus* наблюдали четкие зоны лизиса, сравнимые с контролем.

Также нами изучена антилизоцимная активность шести штаммов чумного микроба, взятых из коллекционного центра института: С-781 (37 КБ), С-775 (9КБ), 461 (231), штамм 4; С-659 (1238-Арм) и вакцинный штамм EV.

Антилизоцимную активность определяли по методу О.В.Бухарина и др. [4]. Количественную оценку антилизоцимной активности штамма проводили по

Определение лизоцима в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и суспензиях блох разных видов

Вид блохи	Индивидуальное исследование блох		Групповое исследование блох		Групповое исследование ЖКТ	
	Число исследованных блох	Из них с положительным результатом	Число (объем) исследованных групп	Из них с положительным результатом	Число (объем) исследованных групп	Из них с положительным результатом
<i>C. wagneri</i>	50	12	Не исследовали		Не исследовали	
<i>C. secundus</i>	50	1	Не исследовали		Не исследовали	
<i>C. golovi</i>	50	6	Не исследовали		2(150)	2
<i>C. orientalis</i>	50	-	4(50)	2	2(200)	1
<i>F. luculenta</i>	50	-	4(50)	3	Не исследовали	
<i>N. consimilis</i>	50	-	4(50)	4	2(200)	1
<i>N. mokrzeckyi</i>	50	-	2(100)	1	2(150)	2
<i>N. fasciatus</i>	50	-	4(50)	4	2(150)	1
<i>N. laeviceps</i>	50	-	2(100)	1	2(150)	2
<i>C. tesquorum</i>	50	-	2(100)	2	2(150)	2
<i>X. cheopis</i>	50	-	4(50)	3	2(200)	1

максимальной концентрации лизоцима в чашке, которая инактивировалась данным штаммом.

Результаты и обсуждение

Установлено, что при индивидуальном исследовании имаго блох 11 видов лизоцим обнаружили только у паразитов трех видов: *C. secundus*, *C. golovi*, *C. wagneri*, которые быстро освобождаются от возбудителя чумы при их искусственном заражении. Из восьми видов насекомых, у которых лизоцим не обнаружили при индивидуальном исследовании, при групповом изучении (по 50 особей) его выявили у блох пяти видов: *Ct. orientalis*, *F. luculenta*, *N. consimilis*, *N. fasciatus*, *X. cheopis*. При приготовлении эмульсии из 100 особей – у паразитов трех видов: *N. mokrzeckyi*, *N. laeviceps*, *C. tesquorum* (таблица).

Полученные результаты позволяют считать, что у насекомых этих видов вероятно содержание лизоцима понижено или ему свойственна более низкая бактерицидная активность.

При исследовании желудочно-кишечного тракта пивших блох лизоцим обнаружен у восьми видов (таблица), причем у трех *N. consimilis*, *C. orientalis*, *X. cheopis* лизоцим выделен только при растирании 200 желудков. Можно предположить, что лизоцим *C. orientalis* активируется в желудочно-кишечном тракте при заражении блохи возбудителем чумы.

При отсутствии специфических гуморальных факторов иммунитета одним из показателей естественной неспецифической защиты у эктопаразитов является лизоцим. Таким образом, степень активности лизоцима у блох разных видов определяет их различие во взаимоотношениях с возбудителями болезней, в том числе и с микробом чумы (*Yersinia pestis*). Содержание лизоцима у блох *N. mokrzeckyi*, *N. laeviceps*, *C. tesquorum* свидетельствуют об относительно слабой их защите от возбудителя, что определяет способность этих эктопаразитов передавать микроб чумы в естественных условиях.

Антилизоцимная активность (АЛА) обнаружена у трех из изученных штаммов чумного микроба: 461, 659 и EV.

АЛА обладают штаммы с высокой вирулентностью: 461, 659 и вакцинный EV. Они инактивировали лизоцим в концентрации 10 мкг/мл. Штаммы 4, 9 и 37 давали небольшой лизис *M. lysodeikticus* при той же концентрации. Можно предположить, что они также обладают АЛА, но при более низкой концентрации лизоцима в опыте.

Нами установлено, что возбудитель чумы обладает АЛА, и это является одним из важнейших факторов, обуславливающих персистенцию чумного микроба в организме блохи.

Основываясь на полученных нами результатах и на данных других авторов [5], мы считаем, что лизоцим, определяя меру антибактериальной защиты насекомого, в организме переносчиков может регулировать механизм передачи возбудителя чумы, обуславливать блокирование, возможно, снижать эффективность данного кровососа как переносчика.

Таким образом, полученные данные имеют важное значение для понимания взаимоотношений патогенных для человека и животных возбудителей с их переносчиками. Есть также основания предполагать, что степень активности лизоцима у разных видов блох определяется их различие во взаимоотношениях с возбудителем чумы и в способности его передачи от животного к животному в природе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев А.Н., Бибилова В.А., Хрущевская Н.М. Наблюдения за питанием блох в условиях принудительного кормления через капилляр возбудителем чумы. Паразитология. 1968; 2(2):115–23.
2. Алексеев А.Н., Бибилова В.А., Хрущевская Н.М. Некоторые доказательства существования бактерицидного фактора в организме кровососов на примере блох – переносчиков чумы. Паразитология. 1969; 3(3):228–35.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина; 1999. 277 с.
4. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Малышкин А.П., Немцева

Н.В. Метод определения антилизозимной активности микроорганизмов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1984; 2:27–8.

5. Козлов М.П., Савельев В.Н., Надеина В.П. О природе бактерицидных факторов у личинок и имаго блох. Пробл. особо опасных инф. 1977; 2(54):52–5.

6. Павловский Е.Н. Условия и факторы становления организма хозяином паразита в процессе эволюции. Зоол. журн. 1946; 4(25):284–304.

7. Соколова Н.М. Выделение от эктопаразитов лизирующего вещества, симулирующего чумной бактериофаг. Труды института «Микроб». Саратов; 1959; 3:93–7.

Об авторах:

Сахно Н.В. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. Тел.: (8652) 26-03-12. E-mail: admnip@mail.stv.ru

N.V.Sakhno

**Functional System of “Lysozyme and Anti-Lysozyme”
in Plague Agent and Flea Organism Interrelations**

Stavropol Anti-Plague Research Institute

Lysozyme is shown to be one of the factors of flea's natural non-specific resistance. Lysozyme is detected in various species of rodents fleas. Besides, some plague agent strains are shown to possess anti-lysozyme activity.

Key words: flea, plague agent, lysozyme, anti-lysozyme activity.

Authors:

Sakhno N.V. Stavropol Anti-Plague Research Institute. 355035, Stavropol, Sovetskaya St., 13–15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Поступила 09.04.09.

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 возникающим 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 тулярийные сухие», производства НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва;

- «Иммуноглобулины сибирезвенные 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 рек, 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 околотовных 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 околотовного 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 вирусоформность 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 Буденновской, 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 Буденновска (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 специфичных для возбудителя туляремии фрагментов ДНК не наблюдали.

Буденновский 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, Эльбурского 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 специфичных 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, неблагополучных 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 «Амплисенс *Influenza virus A H5N1-FRT*» и «Амплисенс *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 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. 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., Макарец 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 эпидемиологической 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 противоэпидемического 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. научн.-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., Ключева 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

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

Беппаев Ю.А., Шинкарева В.Н., Пшихачев Н.Х., Казаков А.М. 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, L.A.Bredgauer, L.S.Gorelkina, P.N.Korzhov, Yu.A.Beppaev, V.N.Shinkareva, N.Kh.Pshikhachev, A.M.Kazakov, I.G.Karnauchov, 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;
Budenovsk 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., Karnauchov 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

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

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

Поступила 20.03.09.

А.Е.Шиянова¹, В.П.Топорков¹, Л.Н.Дмитриева¹, С.Ю.Кабаев²

**ПРАВОВЫЕ ОСНОВЫ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ПРАВИЛ
«САНИТАРНАЯ ОХРАНА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ» (2008 г.)
(материалы к Разделам I–IV СП 3.4.2318-08)**

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

²Управление Роспотребнадзора по Самарской области, Самара

При разработке санитарно-эпидемиологических правил «Санитарная охрана территории Российской Федерации» СП 3.4.2318-08 соблюдалась преемственность их по отношению к санитарно-эпидемиологическим правилам «Санитарная охрана территории Российской Федерации» редакции 2003 г. и учитывались положения правовой базы Российской Федерации. В статье представлены положения законов Российской Федерации и постановлений Правительства Российской Федерации, на которых основаны отдельные пункты Разделов I, II, III и IV.

Ключевые слова: санитарная охрана территории, санитарно-эпидемиологические правила.

В данной статье нами представлены положения современной правовой базы Российской Федерации – законов, подзаконных актов (Постановлений Правительства Российской Федерации и приказов Минздравсоцразвития России), на основе и в развитие которых разработаны санитарно-эпидемиологические правила СП 3.4.2318-08 «Санитарная охрана территории Российской Федерации» (далее – Правила (2008); зарегистрированы в Минюсте России 3 апреля), вступившие в силу с 1 мая 2008 г. Представление данного материала нам показалась обоснованным, поскольку в практической деятельности по осуществлению мероприятий по санитарной охране возникают проблемные вопросы, связанные с правовым обеспечением.

В статье рассмотрены следующие аспекты Правил: общие положения; вопросы регламентирования санитарно-карантинного контроля на Государственной границе Российской Федерации; положения, касающиеся информирования туроператорами, турагентами лиц, совершающих международные поездки, о возможных рисках для здоровья; вопрос взаимодействия в пунктах пропуска.

Правила (2008) гармонизированы с Международными медико-санитарными правилами (ММСП) (2005) [3], включают всю их принципиальную новизну, определенную с участием Российской Федерации, прежде всего их методическую основу гибкого реагирования на события, отраженную в приложении 2 и заключающуюся в реализации двух значимых списков инфекционных болезней: 1) для международного (глобального) и национального (странового) здравоохранения; 2) для национального здравоохранения, но потенциально опасных для распространения на международном уровне. Оба списка интегрированы в методическую структуру алгоритма определения международной значимости событий, возникающих на национальном уровне. Второй список, в связи с устойчивой тенденцией появления новых инфекционных болезней, а также возможностью других но-

зологических форм вызывать чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения (ЧС) международного значения, остается открытым, то есть заканчивается «и другие...».

В Правилах (2008) по сравнению с ММСП (2005) списки 1 и 2 инфекционных болезней представлены в двух приложениях – соответственно № 1 и № 3, которые следует рассматривать в такой же органичной взаимосвязи, как и списки болезней в приложении 2 ММСП (2005), не разрывая и не противопоставляя их. То есть перечень инфекционных болезней в обоих приложениях един, но наличие этих двух приложений позволяет гибко реагировать на динамику эпидемиологической конъюнктуры и отражает позицию Российской Федерации при разработке ММСП (2005) – предложение оставить определенный список болезней, но вывести его из основного текста документа в приложение, уйти от строго фиксированного списка болезней, ограничивающего использование ММСП (1969), учесть тенденцию появления новых инфекционных болезней и алгоритм их оценки как ЧС национального и международного значения [18]. Каждый случай болезней, перечисленных в приложении 1 Правил (2008), для Российской Федерации автоматически соответствует всем критериям, перечисленным в алгоритме, и становится значимым для санитарной охраны территории Российской Федерации и государств-участников СНГ; включение данного списка в алгоритм приложения 3 будет лишь загромождать его. В то же время значимым для санитарной охраны территории может стать любое событие, способное вызвать ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения и соответствующее критериям алгоритма.

В отличие от ММСП (2005), в Правилах (2008) список 1 расширен за счет нозологических форм, имеющих значимость для санитарной охраны территорий государств-участников СНГ, согласно действующим в этой области межгосударственным нормативно-методическим документам. В этот спи-

сок наряду с оспой, полиомиелитом, вызванным диким полиовирусом, человеческим гриппом, вызванным новым подтипом, ТОРС, включены также холера, чума, желтая лихорадка, лихорадка Ласса, болезнь, вызванная вирусом Марбург, болезнь, вызванная вирусом Эбола и малярия. Список 2, представляющий национально значимые инфекционные болезни, в Правилах (2008) по сравнению с ММСП (2005) был дополнен Крымской геморрагической лихорадкой в связи с напряженной и все ухудшающейся эпидемиологической обстановкой по этой инфекции на территории Российской Федерации. То есть внесенные коррективы учитывают эпидемиологическую обстановку и требования правовых, нормативно-методических документов Российской Федерации в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.4.2366-08 «Изменение и дополнение № 1 к санитарно-эпидемиологическим правилам «Санитарная охрана территории Российской Федерации» СП 3.4.2318-08» в список болезней международного и национального значения (Правила (2008), приложение № 1) включены национально значимые нозологические формы из приложения № 3. При этом внесенные изменения, по существу, не изменили общего числа нозологических форм, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации. Баланс национально значимых инфекционных болезней, регламентированный в Правилах (2008), остается прежним – 16 нозологических форм – и после вступления в силу СП 3.4.2366-08 1 июля 2008 г. Вместе с тем данный нормативный акт является организационным решением создания удобства для быстрого принятия решения, планирования и обеспечения противоэпидемической готовности, в том числе создания запаса средств на случай эпидемических осложнений, разработки схем оповещения, внутри- и межведомственного взаимодействия и т.д.

Надо сказать, что термин «санитарная охрана территории» – исторически сложившееся российское понятие; эквивалентом ему являются два термина, используемые для целей ММСП (2005), – «эпиднадзор» и «ответные меры общественного здравоохранения». Понятие «чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения», используемое для целей Правил, отражает адаптировано к российскому правовому полю термин ММСП (2005) «чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения». В то же время при разработке Правил соблюдалась преемственность их по отношению к аналогичному документу, утвержденному в 2003 г.

Обязательность выполнения требований санитарных правил для юридических лиц независимо от организационно-правовых форм и форм собственности, физических лиц, в том числе индивидуальных предпринимателей, указанная в п. 1.5 Правил, опре-

делена Федеральным законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [17] (ст. 39 п. 3). Дисциплинарная, административная и уголовная ответственность за нарушение санитарного законодательства, обозначенная в п. 1.6 Правил, устанавливается ст. 55 этого же закона. Кроме того, административная ответственность за любое «правонарушение, посягающее на здоровье, санитарно-эпидемиологическое благополучие населения» предусмотрена Кодексом Российской Федерации об административных правонарушениях 2001 г. (Глава 6); уголовная ответственность за нарушение санитарно-эпидемиологических правил регламентирована Уголовным кодексом Российской Федерации 1996 г. (ст. 236). Федеральным законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [17] обеспечено право граждан «на возмещение в полном объеме вреда, причиненного их здоровью ... вследствие нарушения ... санитарного законодательства, а также при осуществлении санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Необходимо отметить, что согласно «Основам законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» [4] охрана здоровья граждан – это совокупность мер прежде всего политического, экономического и т.д. характера, и в том числе санитарно-гигиенического и противоэпидемического (ст. 1). Соответственно, санитарно-эпидемиологическое благополучие населения обеспечивается проведением комплекса мер, включающего гигиенические и противоэпидемические мероприятия, соблюдение санитарных правил, норм и гигиенических нормативов и другие организационные, правовые и экономические меры, всеми государственными органами, предприятиями, учреждениями, организациями и гражданами (ст. 11). Организация системы санитарной охраны территории Российской Федерации относится к компетенции государства (ст. 5 п. 9).

В пунктах пропуска через Государственную границу Российской Федерации с целью санитарной охраны территории Российской Федерации вводится санитарно-карантинный контроль¹, являющийся частью Государственного санитарно-эпидемиологического надзора согласно ст. 44 п. 1 Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [17]. Необходимо отметить, что функция исполнения санитарно-карантинного контроля определена законодательно – статьей 30 (пункт 3) указанного закона. Согласно закону Российской Федерации «О государственной границе Российской Федерации» [2] (с изменениями, внесенными Федеральным законом № 266-ФЗ [16]) установление иных видов государственного контроля, кроме пограничного и таможенного, осуществляется соответствующими законами РФ, в развитие которых по-

¹Эквивалент терминам, используемым в Международных медико-санитарных правилах (2005 г.) «медико-санитарные меры», «меры контроля на въезде или выезде в отношении ... лиц, совершающих поездку».

становлением Правительства Российской Федерации от 16 февраля 2008 г. № 94 [6] установлен перечень всех видов контроля, осуществляемых на границе, содержащий в том числе санитарно-карантинный контроль. Постановлением Правительства Российской Федерации² от 26 июня 2008 г. № 482 [8] определено создание федеральными органами исполнительной власти подразделений в пунктах пропуска для обеспечения соответствующего вида контроля (п. 4).

Помещения, сооружения, оборудование, транспортные средства и другое имущество, используемые должностными лицами, осуществляющими санитарно-карантинный контроль, «находятся в федеральной собственности и передаются ... <им> в пользование на праве хозяйственного ведения или оперативного управления в порядке, установленном законодательством Российской Федерации», что определено Федеральным законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [17], ст. 48. Чтобы уточнить п. 4.6. Правил, касающийся данного вопроса, обратимся к положению ст. 12 (абзац 2, 4) Закона о «О государственной границе Российской Федерации» [2], а также к Постановлению Правительства Российской Федерации от 26.06.08 г. № 482 [8], Разделы III, IV, VII которого развивают данное положение: помещения и сооружения, необходимые для организации пограничного и других видов контроля, в том числе санитарно-карантинного, предусматриваются при разработке проектов строительства (реконструкции), оборудования соответствующих зданий, помещений, сооружений (пп. 8, 30). Проектная документация согласовывается с федеральными органами исполнительной власти, осуществляющими различные виды государственного контроля в пункте пропуска (п. 14). Перечень и структуру помещений и сооружений, необходимых для организации санитарно-карантинного контроля, определяют в соответствии с действующим Регламентом оснащения санитарно-карантинных пунктов в пунктах пропуска через Государственную границу Российской Федерации [11].

Еще один пункт Правил требует, на наш взгляд, уточнения — п. 2.6., основанный на положении Федерального закона от 15.08.1996 № 114 «О порядке выезда из Российской Федерации и въезда в Российскую Федерацию» [14] (ст. 26, 27) о возможности запрещения въезда в Российскую Федерацию иностранным гражданам и выезда из Российской Федерации транспортных средств при невыполнении требований, предусмотренных санитарными правилами. Такую возможность предусматривает и ст. 31 (п. 2) ММСП (2005 г.), ставя обязательным условием при этом этичное обращение с лицами, со-

вершающими поездку, а также обеспечение их адекватным питанием, комфортными условиями и средствами связи для информирования родственников. Отказ во въезде гражданину Российской Федерации неправомерен.

Пункт 2.6. Правил предусматривает также возможность запрещения ввоза в Российскую Федерацию и вывоза из Российской Федерации товаров, веществ, отходов, других грузов, багажа и международных почтовых отправлений. Данное положение основано на ст. 32 Федерального закона «Об основах государственного регулирования внешнеторговой деятельности» [13] как мера, необходимая «для охраны жизни или здоровья граждан, окружающей среды, жизни или здоровья животных и растений». В ММСП (2005 г.) такая возможность подразумевается как дополнительная медико-санитарная мера, которая, однако, считается существенным нарушением международного движения, требующим обоснования. Кроме того, данное положение Правил не противоречит положениям Соглашений, подписанных государствами-членами Всемирной торговой организации.

Некоторые изменения коснулись положений об информировании лиц, совершающих поездку за рубеж. Пунктом 4.2.6. Санитарно-эпидемиологических правил «Санитарная охрана территории» (редакция 2003 г.) была предусмотрена обязанность организаций, направляющих граждан Российской Федерации в страны, неблагополучные по инфекционным болезням, регламентированным как требующие проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации, извещать граждан о санитарно-эпидемиологической обстановке и возможном риске заражения указанными болезнями, о мерах их профилактики и др. Основываясь на ММСП (2005 г.), в п. 3.6. Правил (2008 г.) расширен объем информирования лиц, совершающих международные поездки, включающий предупреждение о всех рисках для здоровья по маршруту следования, связанных с инфекционными и паразитарными болезнями, могущими повлечь негативные последствия для санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны. Обязанность турфирм, туроператоров предоставлять соответствующую информацию лицам, собирающимся совершить международную поездку, регламентирована п. 4.20 Правил. Для обеспечения данного требования можно обратиться к Постановлению Правительства Российской Федерации «Правила оказания услуг по реализации туристского продукта» [7], в котором п. 7 (Раздел 3) определяет обязанность Исполнителя (туроператора, турагента) по предоставлению потребителю необходимой и достоверной информации о туристском продукте³.

В перечне сведений, которые в обязательном по-

²Постановление Правительства Российской Федерации от 19 января 1998 г. № 60 «Об утверждении Положения о пунктах пропуска через Государственную границу Российской Федерации», на которое дана нормативная ссылка в СП 3.4.2318-08, утратило силу с момента выхода Постановления Правительства Российской Федерации от 26 июня 2008 г. № 482.

³Комплекс услуг по перевозке и размещению ... (Федеральный закон от 05.02.2007 N 12-ФЗ, ст. 1).

рядке должна содержать такая информация, указаны в том числе сведения: об опасностях, с которыми потребитель может встретиться при совершении путешествия, о необходимости проходить профилактику в соответствии с международными медицинскими требованиями, если потребитель предполагает совершить путешествие в страну (место) временного пребывания, в которой он может подвергнуться повышенному риску инфекционных заболеваний; о таможенных, пограничных, медицинских, санитарно-эпидемиологических и иных правилах (в объеме, необходимом для совершения путешествия) и другие сведения.

Требование по предоставлению информации законодательно обеспечено Федеральным законом «Об основах туристской деятельности в Российской Федерации» [15]. Согласно Статье 14 (Глава VII. Безопасность туризма), «туроператор, турагент обязаны представить туристу и (или) иному заказчику достоверную информацию ... об опасностях, с которыми турист (экскурсант) может встретиться при совершении путешествия».

«Правила оказания услуг по реализации туристского продукта» уточняют положение Закона относительно рисков инфекционной природы, но не учитывают токсикологические риски для здоровья населения. Относительно последних можно обратиться к Закону о защите прав потребителей [1], согласно статьям 7 и 10 которого «потребитель имеет право на то, чтобы товар (работа, услуга) при обычных условиях его использования, хранения, транспортировки и утилизации был безопасен для жизни, здоровья потребителя ...», «... исполнитель обязан своевременно предоставлять потребителю необходимую и достоверную информацию о товарах (услугах) ...». Статьями 12 и 14 предусмотрена ответственность изготовителя (исполнителя, продавца) за ненадлежащую информацию о товаре (работе, услуге).

Определенные вопросы связаны с п. 4.4. Правил о взаимодействии специалистов, осуществляющих санитарно-карантинный контроль, с органами исполнительной власти, осуществляющими иные виды государственного контроля в пунктах пропуска (пограничный, таможенный, ветеринарный, фитосанитарный и др.). Законодательно взаимодействие федеральных органов исполнительной власти, осуществляющих контроль на государственной границе Российской Федерации» [2]; ст. 22 предусматривает при установлении режима в пунктах пропуска создание необходимых условий для осуществления установленных видов государственного контроля в пунктах пропуска, в том числе санитарно-карантинного. Статьей 24 регламентировано как функция администрации аэропортов, аэродромов, морских, речных (озерных) портов, железнодорожных, автомобильных вокзалов и станций, других транспортных предприятий определение места и продолжительности стоянки транспортного средства, как

функция пограничных и таможенных органов – разрешение на посадку (высадку) пассажиров, погрузку (выгрузку) багажа, грузов, а также разрешение на смену места стоянки. Данная статья закона положена в основу следующих положений Правил: должностное лицо, осуществляющее санитарно-карантинный контроль, по результатам его принимает решение о необходимости отведения транспортного средства на санитарную стоянку (причал, тупик, площадку) для проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий (п. 4.17, абз. 3); однако решение об отведении транспортного средства куда-либо принимается администрацией (п. 5.5, абз. 3). При принятии такого решения необходимо соблюдать обязательность своевременного и полного проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, регламентированную ст. 29 Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [17] для юридических и физических лиц. Должностное лицо, осуществляющее санитарно-карантинный контроль, выдает по окончании проведения необходимых санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий (п. 5.12) разрешение на свободную практику только на территории пункта пропуска; окончательное решение о возможности посадки (высадки) пассажиров и выгрузки (погрузки) багажа, грузов принимается должностными лицами других органов исполнительной власти (пограничной и таможенной служб).

Межведомственное взаимодействие в пунктах пропуска осуществляется в рамках:

- деятельности межведомственных санитарно-противоэпидемических комиссий (СПК), создание которых в целях координации мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения и санитарной охраны территории рекомендовано органам исполнительной власти субъектов Российской Федерации и муниципальных образований Российской Федерации Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 03.07.2006 № 14;

- комплексных планов по санитарной охране, утверждаемых Главами администраций территорий;

- деятельности координационных советов, в состав которых на равных правах, в соответствии со ст. 26 Постановления Правительства Российской Федерации от 26 июня 2008 г. № 482 [8], входят руководители подразделений государственных контрольных органов в пунктах пропуска, а также представители администрации пункта пропуска, органа исполнительной власти субъекта Российской Федерации и др. (в п. 20 данного постановления определено используемое в целях Правил понятие «администрация пункта пропуска», создаваемая Федеральным агентством по обустройству государственной границы Российской Федерации в целях обеспечения функционирования (эксплуатации) пункта пропуска). Координационный совет (первый уровень взаимодействия) предусмотрен

как в плановом порядке (не реже 1 раза в квартал), так и в случае возникновения какой-либо угрозы – внеочередное совещание, которое может быть проведено в том числе по инициативе одного из членов координационного совета (п. 27);

- схемы оповещения должностных лиц в пункте пропуска, т.е. оповещение на горизонтальном уровне; схемы оповещения по вертикали, обеспечивающей внутриведомственное информирование и разработанной на случай выявления больного (подозрительного).

Элемент химической безопасности, введенный ММСП (2005 г.), также предусматривает взаимодействие между ведомствами на всех уровнях. Из отдельных межведомственных распорядительных документов, касающихся вопросов взаимодействия, можно назвать утвержденный 26 августа 2005 г. руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека после согласования с руководителем Федеральной таможенной службы Список товаров, на которые должны быть оформлены санитарно-эпидемиологические заключения или свидетельства о государственной регистрации при таможенном оформлении. Третья редакция Списка утверждена 25 марта 2008 г. [9, 12].

По данным, представленным на семинаре для преподавателей по ММСП (2005 г.), проведенном представителями Всемирной организации здравоохранения 12–14 марта 2008 г. в Саратове, проблема взаимодействия между специалистами в разных областях деятельности характерна практически для всех Европейских стран. Однако в свете введения в ММСП (2005 г.) такой беспрецедентной инновации, как выход сферы применения ММСП за рамки, ограниченные только конкретными инфекционными болезнями, охват понятием «чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения» всех рисков для здоровья населения, независимо от происхождения или источника, сотрудничеству и координации деятельности различных ведомств и организаций придается важное значение для обеспечения целей ММСП. На международном уровне статьей 14 ММСП (2005 г.) предусматривается, а резолюцией 58 сессии ВАО постановляется для обеспечения адекватных мер по охране здоровья населения сотрудничество Всемирной организации здравоохранения и координации ее деятельности с такими организациями ООН, как Продовольственная и сельскохозяйственная организация, Международное агентство по атомной энергии, Международная организация гражданской авиации, Международная морская организация и др., а также с другими межправительственными организациями и международными органами [3].

В статье представлены положения законов Российской Федерации и постановлений Правительства Российской Федерации, на которых основаны отдельные пункты Разделов I, II, III и IV Санитарно-эпидемиологических правил «Санитарная охрана территории Российской Федерации»

СП 3.4.2318-08. В санитарные правила интегрирована концептуальная новизна ММСП (2005 г.), ориентированных на неуклонное расширение номенклатуры эпидемиологической и санитарно-гигиенической составляющих чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения, имеющих международное значение. В качестве объекта санитарной охраны на территории Российской Федерации определена «чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения».

Остаются проблемные вопросы в области санитарной охраны территории Российской Федерации, нуждающиеся в первоочередном рассмотрении и отражении в методических документах, круг которых очерчен, в частности, слушателями курсов подготовки специалистов Роспотребнадзора по ММСП (2005 г.) и санитарной охране территории, проводимых в 2008 г. на базе ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и «Противочумный центр».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Закон Российской Федерации о защите прав потребителей от 7 февраля 1992 года № 2300-1 (с изменениями от 2.06.93, 9.01.96, 17.12.99, 30.12.01, 22.08.04, 2.11.04, 21.12.04, 27.06.06, 25.11.06, 25.10.07).
2. Закон Российской Федерации от 1 апреля 1993 года № 4730-1 «О Государственной границе Российской Федерации» (Ведомости съезда народных депутатов и Верховного Совета Российской Федерации, 29.04.1993, № 17, ст. 594; Собрание законодательства Российской Федерации, 1994, № 16, ст. 1861; 1996, № 50, ст. 5610; 1997, № 29, ст. 3507; № 46, ст. 5339; 1998, № 31, ст. 3805; № 31, ст. 3831; 1999, № 23, ст. 2808; 2000, № 46, ст. 4537; № 32, ст. 3341; 2002, № 1 (ч. 1), ст. 2; № 52 (ч. 1), ст. 5134; 2003, № 27 (ч. 1), ст. 2700; 2004, № 27, ст. 2711; № 35, ст. 3607; 2005, № 10, ст. 763; 2007, № 1, ст. 29).
3. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). ВОЗ, Женева; 2006.
4. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан от 22.07.1993 г. № 5487-1 (в ред. Указа Президента РФ от 24.12.1993 № 2288; Федеральных законов от 02.03.1998 № 30-ФЗ, от 20.12.1999 № 214-ФЗ).
5. Постановление Правительства Российской Федерации от 15 сентября 2005 года № 569 «О Положении об осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Российской Федерации».
6. Постановление Правительства Российской Федерации от 16 февраля 2008 г. № 94 «О видах контроля, осуществляемых в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации».
7. Постановление Правительства Российской Федерации от 18 июля 2007 г. № 452 «Правила оказания услуг по реализации туристского продукта».
8. Постановление Правительства Российской Федерации от 26 июня 2008 г. № 482 «Об утверждении правил установления, открытия, функционирования (эксплуатации), реконструкции и закрытия пунктов пропуска через государственную границу Российской Федерации».
9. Пресс-релиз Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 14.02.2006 г. «О списке товаров, применяемом при таможенном оформлении». <http://www.rosпотребнадзор.ru>.
10. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 31.12.2006 г. № 893 «Административный регламент Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека исполнения государственной функции по осуществлению санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через Государственную границу Российской Федерации».
11. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 18.09.2006 г. № 320 «О Регламенте оснащения санитарно-карантинных пунктов».
12. Список товаров, на которые должны быть оформлены санитарно-эпидемиологические заключения или свидетельства о государственной регистрации при таможенном оформлении. <http://www.rosпотребнадзор.ru/docs/other>.
13. Федеральный закон от 08.12.2003 г. № 164-ФЗ «Об

основах государственного регулирования внешнеторговой деятельности» (в ред. Федеральных законов от 22.08.2004 № 122-ФЗ, от 22.07.2005 № 117-ФЗ, от 02.02.2006 № 19-ФЗ).

14. Федеральный закон от 15 августа 1996 года № 114-ФЗ «О порядке выезда из Российской Федерации и въезда в Российскую Федерацию» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1996, № 34, ст. 4029; 1998, № 4, ст. 531; № 30, ст. 3606; 1999, № 26, ст. 3175; 2003, № 2, ст. 159; № 27 (ч. I), ст. 2700; 2004, № 27, ст. 2711; 2006, № 27, ст. 2877; № 31 (ч. I), ст. 3420).

15. Федеральный закон от 24 ноября 1996 года № 132-ФЗ «Об основах туристской деятельности в Российской Федерации» (в ред. Федеральных законов от 10.01.2003 № 15-ФЗ, от 22.08.2004 № 122-ФЗ, от 05.02.2007 № 12-ФЗ).

16. Федеральный закон от 30 декабря 2006 г. № 266-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в связи с совершенствованием государственного контроля в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации».

17. Федеральный закон от 30 марта 1999 года № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1999, № 14, ст. 1650; 2002, № 1 (ч. I), ст. 2; 2003, № 2, ст. 167; № 27 (ч. I), ст. 2700; 2004, № 35, ст. 3607; 2005, № 19, ст. 1752; 2006, № 1, ст. 10; 2007, № 1, ст. 29).

18. Федоров Ю.М., Кутырев В.В., Топорков В.П., Иванов М.П. Анализ и оценка проекта Международных медико-санитарных правил, разработанного секретариатом Всемирной организации здравоохранения. Пробл. особо опасных инф. 2004; 87:5–9.

Об авторах:

Шиянова А.Е., Топорков В.П., Дмитриева Л.Н. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

Кабаяев С.Ю. Управление Роспотребнадзора по Самарской области. 443079, Самара, пр-д им. Георгия Митирева, 1. E-mail: sancntr@fsnsamara.ru

A.E.Shiyanova, V.P.Toporkov, L.N.Dmitrieva, S.Yu.Kabaev

Legal Basis of Sanitary and Epidemiologic Regulations “Sanitary Protection of the Russian Federation Territory” (2008) (Materials for Issues I–IV SR 3.4.2318-08)

Russian Anti-Plague Research Institute “Microbe”, Saratov;
Rospotrebnadzor Administration in Samara Region, Samara

Sanitary and Epidemiologic Regulations “Sanitary Protection of the Russian Federation Territory” SR 3.4.2318-08 were developed with view of observing of their continuity as regards Sanitary and Epidemiologic Regulations “Sanitary Protection of the Russian Federation Territory” (edited in 2003) and in consideration for the provisions of the Russian legislation. Presented in the article are provisions of the Russian Federation laws and decrees of the Government which served as the basis for several items of the Issues I, II, III, and IV.

Key words: sanitary protection of the territory, sanitary and epidemiologic regulations.

Authors:

Shiyanova A.E., Toporkov V.P., Dmitrieva L.N. Russian Anti-Plague Research Institute “Microbe”. 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Kabaev S.Yu. Rospotrebnadzor Administration in Samara Region. 443079, Samara, G. Mitirev Pr-d, 1 E-mail: sancntr@fsnsamara.ru

Поступила 19.09.08.

Е.М.Кузнецова, И.А.Шепелёв, О.А.Волох

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ АНТИГЕНОВ *FRANCISELLA TULARENSIS*

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

В обзоре представлены данные литературы об антигенных компонентах туляремиального микроба, описываются их биохимическая структура и иммуногенные свойства. Научные данные указывают на то, что, несмотря на активные исследования, проводимые в области изучения отдельных антигенных компонентов *Francisella tularensis* и определения их роли в иммунопрофилактике и диагностике инфекции, причина высокой патогенности возбудителя туляремии не установлена, а также проблема разработки безопасной субъединичной вакцины и высокоспецифичных методов экспресс-индикации возбудителя остается нерешенной.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, антигены, белки внешней мембраны, липополисахарид, капсула.

Возбудитель туляремии – *Francisella tularensis*, циркулируя в природных очагах, может вызывать вспышки заболевания среди широкого круга хозяев, включая человека, что представляет серьезную проблему для практического здравоохранения. Несмотря на успешные исследования особенностей строения и биологии туляремиального микроба в последнее время, факторы патогенности этого возбудителя и его протективные антигены не установлены [3, 31, 47]. Это, в свою очередь, затрудняет работу по созданию химических вакцин против туляремии [29, 42], а также разработке и усовершенствованию методов иммунодиагностики возбудителя [21].

К настоящему времени установлено, что возбудитель туляремии относится к внутриклеточным паразитам, обитает в фагоцитах, подавляя их способность убивать чужеродные клетки. Обладает ферментом нейраминидазой, который способствует прикреплению бактерии к клеткам-мишеням, и эндотоксином, вызывающим при разрушении микробной клетки общие симптомы интоксикации в организме человека. Кроме того, у возбудителя туляремии обнаружены рецепторы, связывающиеся с Fc-фрагментом антител класса IgG, что нарушает активность системы комплемента и макрофагов [47]. Выявлено, что *F. tularensis* также обладают факторами персистенции, направленными на инактивацию механизмов естественной противоинойфекционной резистентности, такими как антилизосомная, антилактоферриновая и антикомплемментарная активности, частота встречаемости и выраженности которых зависит от источника выделения микроорганизмов [24]. По иммунологической значимости протективные антигены туляремиального микроба можно условно разделить на два вида [5]. Первая группа – антигены, синтезируемые во вторую фазу биосинтетического цикла развития популяции, как вторичные метаболиты. Возможная область их применения – экстренная профилактика заболевания. Вторая группа это конститутивные антигены возбудителя, антитела на ко-

торые индуцируют переход микробной популяции в латентную или некультивируемую фазу развития.

В данной работе мы попытались объединить имеющиеся на сегодняшний день сведения об основных антигенных компонентах туляремиального микроба.

Белкам внешней мембраны *F. tularensis* в настоящее время уделяется большое внимание при изучении клеточно-опосредованного иммунитета и совершенствования диагностики туляремии. Установлено, что содержание белка во внешней мембране составляет от 12 до 20 %, углеводов от 15 до 30 %, липидов до 40 % [22]. Белковый спектр этой структуры, по данным SDS-ПААГ электрофореза, разнообразен: обнаружено до 25 белковых фракций с молекулярными массами от 10 до 80 кДа. Основными интегральными белками являются белки с молекулярными массами 47, 41–43, 17 и 12 кДа [17, 22]. Существенной разницы в спектре мембранных белков у вирулентных и авирулентных штаммов не обнаружено [44]. Однако из штамма Schu S4 *F. tularensis* subsp. *nearctica* (LD₅₀ <10 КОЕ) был получен спонтанный мутант со сниженной вирулентностью (LD₅₀ ≥10⁸ КОЕ), который, по данным сравнительного протеомного анализа, был лишен способности экспрессировать белок 58 кДа [42]. Установлено, что препараты внешней мембраны обладают протективной активностью для белых мышей и морских свинок [22] и оказывают выраженный иммуномодулирующий эффект на разные формы функциональной активности макрофагов [19]. При росте внутри макрофагов *F. tularensis* выделяет стрессовые белки. В частности, был получен белок с молекулярной массой 23 кДа с изоэлектрической точкой рН 5,8. Аминокислотная последовательность этого протеина отличалась от других известных белков, его функции в настоящее время неизвестны, хотя, по-видимому, он играет роль в ответе на стресс [31]. Показано, что некоторые белки внешней мембраны распознаются специфическими Т-лимфоцитами [46, 50]. Кроме того, Н.М.Surcel и соавт. [50] идентифицировали два термоллабильных

белка с молекулярной массой 17 и 40 кДа. Белок 17 кДа оказывает значительное влияние на пролиферативную активность Т-клеток у людей, вакцинированных живой тулярийной вакциной, тогда как белок 40 кДа не вызывает пролиферацию Т-лимфоцитов, но влияет на выработку антител. Установлено сходство между белком 40 кДа и OmpA-подобными белками наружной мембраны других бактерий [50]. Была проведена оценка диагностической значимости ряда белков внешней мембраны возбудителя туляремии, обладающих различными антигенными детерминантами [36, 49]. При этом особое внимание привлекали белки с молекулярными массами в пределах 17–20 и 63 кДа, которые эффективно выявляются в иммуноблоттинге сыворотками иммунизированных людей и животных [23, 27, 41, 49]. Кроме того, получены моноклональные антитела к белку внешней мембраны *F. tularensis* 43 кДа, специфичность которых в ИФА составила 96 % [28]. А.Нотта и соавт. [38] были сконструированы семь моноклональных антител, специфичных, по крайней мере, к пяти различным антигенным детерминантам *F. tularensis* LVS, из них четыре реагировали также с *F. tularensis subsp. novicida* и *F. philomiragia*. С помощью иммуноблоттинга в составе данных препаратов были обнаружены антитела к белкам *F. tularensis subsp. holarctica* и *subsp. nearctica* с молекулярными массами 10, 17, 40, 41 и 43 кДа. Вышеописанные моноклональные антитела обладали различной агглютинативной активностью, а сконструированные на их основе флюоресцентные конъюгаты – различной специфичностью [38]. Разработана ПЦР тест-система, основанная на определении генов, кодирующих такие белки наружной мембраны, как ForA (43 кДа) [34] или липопротеин TUL4 (17 кДа) [35]. Известно, что ForA белок представлен на поверхности в количестве 10^4 молекул на клетку и тесно связан с липополисахаридами *F. tularensis* [7]. В.Г.Луниным и соавт. [9] был сконструирован рекомбинантный штамм *F. tularensis* 15, обладающий способностью к суперэкспрессии белка TUL4, реализован новый методический подход для клонирования гена белка TUL4, позволивший получить высокий уровень экспрессии этого гена в клетках *E. coli*. Позже на основе *E. coli* был создан высокоэффективный штамм-продуцент химерного белка TUL4-CBD, состоящего из последовательности белка TUL4, (Gly-Ser)-спейсера и целлюлозосвязывающего домена из *Anaerocellum thermophilum*, способного индуцировать выработку специфических антител к белку TUL4 у лабораторных животных [9, 10]. На основе последовательностей генов, кодирующих белки TUL4, ForA и 23 кДа протеин, были созданы праймеры для детекции *F. tularensis* в различных вариантах ПЦР-анализа [26, 48].

Мокриевичу А.Н. и соавт. [12] при изучении геномов вирулентного штамма *F. tularensis subsp. tularensis* Schu и вакцинного штамма *F. tularensis subsp. holarctica* LVS удалось идентифицировать ген *qseC*, относящийся к системе «чувства кворума»

и кодирующий белок с молекулярной массой около 56 кДа. По мнению авторов, некоторые отличия в нуклеотидной последовательности гена *qseC* штаммов различного географического происхождения могут дать основу для разработки метода быстрой диагностики туляремии, позволяющего не только обнаружить возбудитель, но и определить его подвиды [12].

В последнее время интенсивно развивается направление по изучению антигенов, выделяемых в среду культивирования в процессе роста микроорганизма. В частности, В.Лee и соавт. получили белки из культуральных фильтратов вирулентного и вакцинного штаммов голарктического подвида. Установлено, что в составе белков, выделяемых вирулентным штаммом, содержатся белок теплового шока 65 кДа, GroEL и ферменты: супероксиддисмутаза, щелочная гидропероксидредуктаза [40, 42]. Был выделен полипептид, синтезируемый при стрессовом ответе на повышение температуры. По ряду признаков (индукция в условиях стрессового ответа, масса субъединиц, полиморфное строение, морфология при электронной микроскопии) данный полипептид можно идентифицировать как стрессовый белок-шаперон GroEL (Cpn 60) [18].

Таким образом, на сегодняшний день идентифицировано большое количество иммуногенных белков тулярийного микроба, но ни один из них не способен индуцировать протективный иммунный ответ. Возможно, это связано с тем, что активная выработка антител в ответ на введение антигена в макроорганизм не обеспечивает защиту организма против туляремии без активации клеточного звена иммунной системы (прежде всего Т-клеток памяти) [42].

Липополисахарид (ЛПС) как компонент внешней мембраны представляет существенный интерес, так как традиционно с ним связаны многие жизненно важные для грамотрицательных бактерий функции [2, 14]. У вирулентных штаммов *F. tularensis* ЛПС в S-форме, для авирулентных характерен R-ЛПС. Известно, что в процессе диссоциации клеток *F. tularensis* из S- в R-форму нарушается синтез углеводсодержащих компонентов, при этом синтезируемый ЛПС представлен только в R-форме, лишенной специфических O-боковых цепей. Фазовые вариации липида А действуют на способность микроорганизма к внутриклеточному росту. В одной фазе уменьшение выделения оксида азота (II) приводило к бактериальному росту, тогда как в другой фазе повышение продукции NO останавливало рост. При этом установлено, что из 4 подвигов *F. tularensis* наибольшей стимуляцией монооксида азота, а, следовательно, наименьшей антифагоцитарной активностью обладает подвид *F. tularensis subsp. novicida*, что, возможно, связано с отсутствием гена, ответственного за биосинтез гомоцистеина, являющегося антагонистом окиси азота. Эти изменения бактериального роста первоначально были отмечены в макрофагах крыс [30], а в последствии также в макрофагах и полиморфно-ядерных лейкоцитах мор-

ских свинок [4].

Первые работы по выделению и изучению ЛПС показали, что препараты ЛПС туляремийного микроба, выделенные из клеток по методу O. Westphal, не обладают свойствами типичного эндотоксина [31]. В отличие от мембранных белков, углеводсодержащие компоненты внешней мембраны, очищенные от белковых примесей, не способны стимулировать Т-лимфоциты. Несмотря на это, ЛПС – один из основных углеводных полимеров, который эффективно взаимодействует с антителами, присутствующими в сыворотках инфицированных или вакцинированных живой вакциной людей [45]. Установлено, что ЛПС является одним из основных стимуляторов гуморального иммунного ответа [34]. Для представителей вида *F. tularensis*, включая *F. tularensis subsp. novicida* (-like), ЛПС является иммунодоминантным антигеном, на О-полисахариде которого локализованы высокоспецифичные эпитопы [2]. Была показана также возможность применения ДОТ-иммуноанализа с использованием в качестве антигенсодержащего препарата ЛПС *F. tularensis* для определения противотуляремийных антител в сыворотках больных и вакцинированных людей и животных. Данный метод обладал достаточно высокой чувствительностью и специфичностью [1]. За рубежом диагностика туляремии у человека иммуноферментными и иммуносуппензионными методами базируется на выявлении видоспецифических антител против ЛПС в сыворотках больных [32]. В ИФА с применением моноклональных антител к ЛПС определяются все штаммы *F. tularensis*, кроме *novicida*, нет перекрестных реакций с другими видами бактерий. Чувствительность метода составляет 10^3 КОЕ/мл в фосфатном буфере и 10^4 КОЕ/мл в сыворотке человека. Иммунохроматографический анализ также основан на поли- и моноклональных антителах к ЛПС *F. tularensis* LVS. Его чувствительность – 10^6 КОЕ/мл в фосфатном буфере и 10^7 КОЕ/мл в сыворотке человека [35]. На сегодняшний день на основе моноклональных антител к ЛПС *F. tularensis* разрабатываются различные методы детекции возбудителя туляремии [21, 33, 39]. Кроме того, для диагностики *F. tularensis* предлагается использовать конъюгаты иммуноглобулинов, направленных к эпитопам молекулы ЛПС туляремийного микроба, меченные пенициллиназой [6]. С.Н. Скопинской и соавт. [20] разработан метод флуоресцентного липосомального иммуноанализа (ФЛИА) для обнаружения антител к возбудителям некоторых инфекционных заболеваний, в том числе и туляремии, на основе липосом, сенсibilизированных поверхностными антигенами липополисахаридной природы с инкапсулированными флуоресцентными маркерами. Абсолютная чувствительность метода ФЛИА составила 25–100 нг/мл иммуноглобулинов класса G, что в 4–165 раз превосходит применяемую в практике РПГА для выявления антител к возбудителю туляремии [20].

Препараты ЛПС представителей рода *Francisella* характеризуются отсутствием токсичных свойств

для организма хозяина [2, 14, 45], но не защищают лабораторных животных от гибели при заражении вирулентными штаммами *F. tularensis*. По результатам других исследований [11] установлено, что обработка чувствительных животных очищенными не содержащими примесей белка препаратами ЛПС обеспечивала повышение их неспецифической резистентности к возбудителю. В частности, иммунизация очищенным препаратом ЛПС *F. tularensis subsp. nearctica* защищала белых мышей от заражения штаммами голарктического подвида, но не защищала от *subsp. novicida*, тогда как препарат ЛПС *subsp. novicida* защищал против собственного подвида, но не обеспечивал защиту против голарктического [42]. Кроме того, S-ЛПС вирулентных штаммов характеризовался большей иммуномодулирующей активностью по сравнению с R-ЛПС авирулентных штаммов как по показателю количества выживших животных, так и по продолжительности жизни павших [43]. Также было показано, что S-ЛПС вирулентных бактерий менее активно взаимодействует с липополисахаридсвязывающим белком сыворотки крови человека, чем R-ЛПС авирулентных вариантов, что позволяет *F. tularensis* 15НИИЭГ длительно персистировать в организме и обеспечивать формирование специфического иммунитета против туляремийной инфекции [14]. Проведенные исследования [22, 23] показали, что ЛПС в комплексе с мембранными белками (ЛПБК), полученный из внешней мембраны при обработке детергентами, ультрацентрифугированием и последующей гель-фильтрацией, обладал выраженной иммуномодулирующей активностью. Данный антигенный комплекс защищал белых мышей и морских свинок от гибели при заражении вирулентными штаммами *F. tularensis* 503 (*subsp. holarctica*) и *F. tularensis* Schu (*subsp. nearctica*), соответственно. Биохимический анализ ЛПБК туляремийного микроба показал, что в его состав входит ЛПС и мембранные белки с молекулярной массой 17–20 кДа, с соотношением ЛПС:белок 1:1 по массе [8]. В дальнейшем из ЛПБК туляремийного микроба дифференциальным ультрацентрифугированием был выделен «С»-комплекс, содержащий белок (60–70 %) и ЛПС [5, 25].

Только живые бактерии природных штаммов *F. tularensis* обладают *in vivo* высокотоксичной формой ЛПС. Нарушения в синтезе ЛПС или гибель микроба приводят к утрате биологической активности этой молекулы. Внутривенное введение мышам препарата ЛПС вирулентного штамма в дозе 25 мг не приводило к гибели и повышало чувствительность к туляремии [14]. При этом даже незначительные изменения в структуре ЛПС мутантных штаммов приводят к снижению патогенности возбудителя, что позволяет рассматривать ЛПС как важный фактор вирулентности туляремийного микроба.

В пользу модификации (антигенных фазовых вариаций) ЛПС туляремийного микроба *in vitro* свидетельствуют данные об обнаружении в сыворотках

людей с туляремийной инфекцией антител, направленных к специфическим эпитопам ЛПС другого подвида возбудителя – *subsp. novicida* [2]. Возможно такой механизм направлен на изменение токсического потенциала ЛПС: у чувствительных хозяев такие вариации приводят биологически инертный ЛПС в токсическую форму, а у нечувствительных (туляремия у человека) в нетоксическую форму, включая изменения антигенной специфичности. Последнее, обуславливая уход бактерий от системы специфической защиты организма, может способствовать длительной персистенции возбудителя в макроорганизме с формированием носительства [14, 16]. В формировании такого носительства может иметь значение чередование таких фаз развития популяции микроорганизмов, как накопление численности и переход в некультивируемое состояние [5].

Капсула (капсулоподобное вещество) туляремийного микроба на 50–70 % состоит из липидов, другие компоненты мало изучены [37, 47]. В мазках-отпечатках из органов животных, павших от туляремии, это образование имеет вид небольшой светлой зоны вокруг бактериальной клетки [13]. По данным электронной микроскопии, у *F. tularensis* в вирулентной форме имеется капсулообразный покров, который частично теряется при гипертонической обработке [37, 44]. По результатам исследований G. Sandstrom и соавт. [44], в спектрах мембранных белков капсульного вакцинного штамма LVS и его бескапсульного авирулентного мутанта различий не обнаружено. Однако при изучении поверхностных структур туляремийного микроба было установлено, что во внешней мембране у капсульных вариантов присутствует белок с молекулярной массой 65 кДа и S-ЛПС, тогда как у бескапсульных – белок с молекулярной массой 33 кДа и R-ЛПС [16]. Капсула обеспечивает устойчивость к сывороткам, но не требуется для выживания при фагоцитозе в полиморфно-ядерных лейкоцитах. У вакцинированных LVS людей лимфоциты, реагирующие с белковыми антигенами и антителами, продуцировались против углеводных антигенов, представленных в капсуле [44]. Белковые антигены, которые вызывали реактивность Т-клеток у вакцинированных людей, исследовались с помощью капсул-дефицитных мутантов вакцинного штамма. Некоторые антигены были идентифицированы, а четыре основных были очищены и определены их молекулярные массы: 61, 37, 32 и 17,5 кДа. Последние два белка представлены на бактериальной поверхности. Все указанные полипептиды вызывали пролиферацию лимфоцитов у вакцинированных людей. Бескапсульные мутанты обладали более высокой нейраминидазной активностью, чем исходный штамм. Позднее этим же автором было показано, что для бескапсульных вариантов *F. tularensis* разной подвидовой принадлежности характерны также чувствительность к нормальной сыворотке человека, отсутствие антигенов капсульного вещества и неспособность вступать в сероло-

Характеристика основных антигенных компонентов *F. tularensis*

Признаки	Источник
Антигенные компоненты	
ЛПС	[2; 8; 13; 14; 22; 23; 25; 27; 31; 43; 45; 46; 47]
белки внешней мембраны	[5; 7; 8; 12; 13; 17; 18; 22; 23; 25; 27; 31; 36; 40; 41; 46; 47; 49; 50]
капсула	[13; 16; 31; 37; 44; 47]
Функции	
адаптация к факторам внешней среды	[3; 4; 13; 18; 31; 42]
адгезия	[13; 15; 24; 31; 37; 47]
роль в вирулентности	[3; 8; 11; 13; 14; 15; 19; 22; 24; 30; 34; 37; 42; 45; 46; 47]
Возможность применения	
вакцины	[5; 9; 10; 13; 22; 29]
диагностика	[1; 2; 6; 13; 20; 21; 26; 27; 28; 32; 33; 35; 38; 39; 48; 49]

гические реакции (РНГА, РНАт) [16]. Были описаны устойчивые мутанты с неполной капсулой, один из которых оказался авирулентным для мышей и восприимчивым к комплемент-зависимому лизису. Последний, поглощенный полиморфно-ядерными лейкоцитами, не вызывал антимикробный ответ и сохранялся в клетке макроорганизма. Исходный штамм *F. tularensis* наоборот вызывал кислородный взрыв и уничтожался внутри клеток хозяина [47]. По-видимому, капсула является необходимым компонентом для проявления туляремийным микробом вирулентности в полной мере.

Хотя возбудитель туляремии известен более века, сведения о его биологических особенностях, жизни вне макроорганизма и факторах патогенности все еще очень ограничены. Из числа возможных факторов патогенности *F. tularensis* подробно изучен лишь ЛПС, играющий существенную роль в патогенезе инфекции и проявлении специфичности. В течение последнего десятилетия ведутся активные исследования в области изучения отдельных антигенных компонентов белковой природы, а также секретируемых иммуногенов, и определения их роли в иммунопрофилактике и диагностике инфекции (таблица). Но, несмотря на это, до сих пор не установлены антигены *F. tularensis*, обладающие достаточной протективной и иммунологической активностями, необходимыми для разработки безопасной субъединичной вакцины и высокоспецифичных методов экспресс-индикации возбудителя и ранней диагностики инфекции. Научные данные указывают на необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аронова Н.В., Павлович Н.В. Использование препаратов ЛПС *F. tularensis* в точечном ИФА для обнаружения противотуляремийных антител. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2000; 5:75–8.
2. Аронова Н.В., Павлович Н.В. Фазовые вариации липополисахарида *Francisella tularensis* при инфекции человека. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 4:8–12.
3. Домарадский И.В. Проблемы патогенности франциселл.

Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 1:106–10.

4. Дубровина В.И., Коновалова Ж.А., Татарников С.А., Мазеп А.В., Бельков А.И. Неспецифическая резистентность морских свинок в отношении *F. tularensis* с разными фенотипическими свойствами. В кн.: Матер. VIII Межгос. науч.-практ. конф. государств.-участников СНГ; 25–26 сентября 2007; Саратов. Саратов; 2007. С. 198–200.

5. Жемчугов В.Е. Как мы делали химические вакцины. Записки о современных охотниках за микробами. М.: «Наука»; 2004. 349 с.

6. Куанбаев Д.Н., Чимиров О.Б., Темиралиева Г.А., Лухнова Л.Ю., Турсунов А.Н. Иммуноглобулиновый пенициллиновый конъюгат для выявления антигена возбудителя туляремии. Лаб. дело. 1990; 1:44–6.

7. Кудрявцева Т.Ю., Комбарова Т.И., Павлов В.М. FORA белок внешней мембраны вакцинного штамма *Francisella tularensis*: выделение и моделирование структуры. В кн.: Матер. VII Межгос. науч.-практ. конф. государств.-участников СНГ; 3–5 октября 2006; Оболениск, Московской обл., Россия. Оболениск; 2006. С. 110.

8. Кулевацкий Д.П. Липополисахаридобелковые комплексы внешней мембраны возбудителя туляремии [автореф. дис. канд. биол. наук]. Любучаны; 1994. 20 с.

9. Лунин В.Г., Мецереякова И.С., Народноцкий Б.С., Шмаров М.М., Ляцук А.В., Родионова И.В. и др. Суперэкспрессия гена белка TUL4 – основного белка наружной мембраны *Francisella tularensis* – в рекомбинантных штаммах *F. tularensis* и *Escherichia coli*: новые подходы к созданию генно-инженерных живых и субъединичных вакцин для профилактики туляремии. В кн.: Медицинская микробиология – XXI век: Матер. Всерос. науч.-практ. конф.; 28–30 сент. 2004; Саратов; 2004. С. 136–7.

10. Ляцук А.М., Лунин В.Г., Карягина А.С., Сергиенко О.В., Лаврова Н.В., Рязанова Е.М. и др. Получение и характеристика рекомбинантного белка TUL4 из *F. tularensis*, потенциального компонента генно-инженерной субъединичной противотуляремийной вакцины. Биотехнология. 2006; 5:32–8.

11. Маслова Н.Н., Павлович Н.В. Иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства препаратов липополисахарида представителей рода *Francisella*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1999; 4:50–3.

12. Мокриевич А.Н., Платонов М.Е., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Бахтеева И.В., Титарева Г.М. и др. Влияние нуклеотидной мутации в гене QSEС на биологические свойства туляремийного микроба. В кн.: Матер. VIII Межгос. науч.-практ. конф. государств.-участников СНГ; 25–26 сентября 2007; Саратов. Саратов; 2007. С. 252–4.

13. Олсуфьев Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: Медицина; 1975. 190 с.

14. Оноприенко Н.Н., Павлович Н.В. Роль липополисахарида в токсичности бактерий рода *Francisella*. Молекулярная генетика. 2003; 3:23–8.

15. Оноприенко Н.Н., Павлович Н.В. Взаимодействие S- и R-липополисахаридов *Francisella tularensis* с липополисахарид-связывающим белком сыворотки крови человека. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2008; 4:16–21.

16. Павлович Н.В., Мишанькин Б.Н., Данилевская Г.И., Ходова В.А., Рыжкова В.В., Цимбалистова М.И. и др. Получение бескапсульных вариантов *Francisella tularensis*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1993; 2: 7–11.

17. Родионова И.В., Захаренко В.И. Антигенный состав белков наружной мембраны туляремийного микроба. Мол. ген. микробиол. и вирусол. 1990; 11:16–8.

18. Романова Л.В., Водопьянов С.О., Саямов С.Р., Олейников И.П., Мишанькин Б.Н. Тепловой стресс и белок теплового стресса GroEL у возбудителя туляремии. Биотехнология. 2004; 5:33–8.

19. Скотов Д.В., Хлебников В.С., Василенко Н.Р. Влияние антигенных фракций внешней мембраны *Francisella tularensis* на функциональную активность макрофагов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1993; 4:87–91.

20. Скопинская С.Н., Ярков С.П., Храмов Е.Н. Применение флуоресцентного липосомального иммуноанализа для выявления антител к возбудителям туляремии, холеры, брюшного тифа, сапа и меллиоза. Пробл. особо опасных инф. 2007; 2(94): 67–71.

21. Сырова Н.А., Терешкина Н.Е., Девдариани З.Л. Современное состояние иммунодиагностики туляремии. Пробл. особо опасных инф. 2008; 3(97):12–5.

22. Хлебников В.С., Головлев И.Р., Кулевацкий Д.П., Аверин С.Ф., Пишиков С.Ю., Тохтамышева Н.В. и др. Изучение биохимических, антигенных и протективных свойств внешней мембраны возбудителя туляремии. Мол. генет. микробиол. и вирусол. 1991; 7:15–20.

23. Хлебников В.С., Кулевацкий Д.П., Головлев И.Р., Аверин С.Ф., Жемчугов В.Е., Чузунов А.М. и др. Исследование ЛПС-белкового комплекса из внешней мембраны *Francisella tularensis*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1992; 3:13–7.

24. Шеенков Н.В., Оточинский Э.Ф., Вальшев А.В.,

Вальшева И.В., Карташова О.Л., Паршина А.В. и др. Факторы персистенции *Francisella tularensis*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2006; 1:63–6.

25. Шенелёв И.А., Волох О.А., Еремин С.А., Дятлов И.А. Оптимизация способа получения «С»-комплекса туляремийного микроба. Пробл. особо опасных инф. 2006; 2(92):61–64.

26. Яшекин Ю. И., Куличенко А. Н., Иващенко Л. Н., Самоилова Л.В., Кутырев В.В. ПИР-тест-система для детекции возбудителя туляремии. Пробл. особо опасных инф. 2003; 1(81):159–63.

27. Bevander L., Maeland J.A., Naess A.I. Agglutinin and antibodies to *F. tularensis* outer membrane antigens in the early diagnosis of disease during an outbreak of tularemia. J. Clin. Microbiol. 1988; 26:433–7.

28. Bevanger L., Maeland J. A., Naess A.I. Competitive enzyme immunoassay for antibodies to a 43 000-molecular-weight *Francisella tularensis* outer membrane protein for the diagnosis of tularemia. J. Clin. Microbiol. 1989; 27:922–6.

29. Conlan J.W. Vaccines against *Francisella tularensis* – past, present and future. Expert Rev. Vaccines. 2004; 3(3):307–14.

30. Cowley S.C., Myltseva S.V., Nano F.E. Phase variation in *Francisella tularensis* growth, lipopolysaccharide antigenicity and nitric oxide production. Mol. Microbiol. 1996; 20(4):867–74.

31. Ellis J., Petra C.F. Oyston, Green M., Titball R. Tularemia. J. Clin. Microbiol. 2002; 15:631–46.

32. Fomsgaard A. Antibodies to LPS: some diagnostic and protective aspects. AMPIS Suppl. 1990; 18:1–38.

33. Fulop M., Webber T., Manchee R.J., Kelly D.C. Production and characterization of monoclonal antibodies directed against the lipopolysaccharide of *F. tularensis*. J. Clin. Microbiol. 1991; 29(7):1407–12.

34. Fulop M., Manchee R., Titball R. Role of two membrane antigens in induction of different virulence. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1996; 13:245–7.

35. Grunow R.W., Spletstoesser S., McDonald C., Otterbein C., O'Brien T., Morgan C. et al. Detection of *Francisella tularensis* in biological specimens using a capture enzyme-linked immunosorbent assay, an immunochromatographic handheld assay, and a PCR. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2000; 7:86–90.

36. Havlasova J., Herychova L., Halada P., Pellantova W., Krejsek J., Stulik J. et al. Mapping of immunoreactive antigens of *Francisella tularensis* live vaccine strain. Proteomics. 2002; 2: 857–67.

37. Hood A.M. Virulence factors of *Francisella tularensis*. J. Hyg. (Lond.). 1977; 79:47–60.

38. Hotta A., Akihiko U., Fujita O., Tanabayashi K., Yamada A. Preparation of monoclonal antibodies for detection and identification of *Francisella tularensis*. Clin. Vaccine Immunol. 2007; 14(1):81–4.

39. Hulseweh B., Ehrlich R., Marshall H.-J. A simple and rapid protein array based method for the simultaneous detection of bio warfare agents. Proteomics. 2006; 6:2972–81.

40. Lee B., Clemens D., Horwitz M. Identification of early culture filtrate proteins of *Francisella tularensis*. Fourth International Conf. On Tularemia; City of Bath, United Kingdom; 2003. 202 p.

41. Nano F.E. Identification of a heat-modifiable protein of *Francisella tularensis* and molecular cloning of the encoding gene. Microb. Pathogen. 1988; 5:109–19.

42. Oyston Petra C.F. *Francisella tularensis*: unravelling the secrets of an intracellular pathogen. J. Med. Microbiol. 2008; 57:921–30.

43. Prior J.L., Prior R.G., Hitchen P.G. Characterisation of the lipopolysaccharide of *F. tularensis* subspecies *tularensis*. Fourth International Conf. On Tularemia; City of Bath, United Kingdom; 2003. 27 p.

44. Sandstrom G., Lofgren S., Tarnvik A. A capsule deficient mutant of *Francisella tularensis* LVS exhibits enhanced sensitivity to killing by serum but diminished sensitivity to killing by polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun. 1988; 56(5):1194–202.

45. Sandstrom G., Sjostedt A., Johansson T. Immunogenicity and toxicity of lipopolysaccharide from *Francisella tularensis* LVS. FEMS Microbiol. Immunol. 1992; 5:201–10.

46. Sjostedt A., Sandstrom G., Tarnvik A. Several membrane polypeptides of the live vaccine strain *Francisella tularensis* LVS stimulate T cells from naturally infected individuals. J. Clin. Microbiol. 1990; 28(1):43–8.

47. Sjostedt A. Virulence determinants and protective antigens of *Francisella tularensis*. Curr. Opin. Microbiol. 2003; 6:66–71.

48. Spletstoesser W.D., Tomaso H., Dahouk S.A., Neubauer H., Schuff-Werner P. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. J. Vet. Med. 2005; 52:249–61.

49. Stulik J., Cerna J., Kovarova H., Macela A. Protein heterogeneity of *Francisella tularensis*: detection of proteins with antigenic determinants. Folia microbiol. (Praha). 1989; 34(4):316–23.

50. Surcel H.M., Sarvas M., Helander J.M., Herva E. Membrane proteins of *Francisella tularensis* LVS differ in ability to induce proliferation of lymphocytes from tularemia-vaccinated individuals. Microbiol. Pathogen. 1989; 7:411–9.

Об авторах:

Кузнецова Е.М., Шепелёв И.А., Волох О.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

E.M.Kuznetchova, I.A.Shepelev, O.A.Volokh

**Structural and Functional Characterization
of Main *Francisella tularensis* Antigens**

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

The review presents literature data on tularemia agent antigenic components, their biochemical structure and immune properties. Though active studies are carried out to analyze separate *Francisella tularensis* antigenic

components and to elucidate their role in immunoprophylaxis and diagnostics of this infection, the cause of tularemia agent high pathogenicity is not yet determined. Nor is decided the problem of the development of safe subunit vaccine and high-specific methods of agent express-indication, according to scientific evidence.

Key words: *Francisella tularensis*, antigens, outer membrane proteins, lipopolysaccharide, capsule.

Authors:

Kuznetchova E.M., Shepelev I.A., Volokh O.A. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 27.11.08.

Г.Н.Одинокоев, Г.А.Ерошенко, В.В.Кутырев

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГЕНА *inv*
У ШТАММОВ ЧУМНОГО И ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗНОГО МИКРОБОВ**

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

У чумного микроба основного и неосновных подвидов и у псевдотуберкулезного проведен структурно-функциональный анализ гена *inv*, кодирующего один из важных факторов патогенности возбудителя псевдотуберкулеза. Показано, что структура гена *inv* у всех изученных штаммов неосновных подвидов так же, как и у основного подвида *Yersinia pestis*, нарушена внедрением инсерционной последовательности IS1541, что свидетельствует о потере функциональной активности этого гена на ранних стадиях эволюции возбудителя чумы.

Ключевые слова: возбудители чумы и псевдотуберкулеза, фактор инвазии и адгезии, ген, мутация.

Возбудитель чумы ведет свое происхождение от псевдотуберкулезного микроба, с которым имеет высокий процент идентичности нуклеотидной последовательности гомологичных генов (97–99 %) [5]. Однако ряд генов, присутствующих в геноме *Yersinia pseudotuberculosis* в интактной форме, у *Y. pestis* существует в виде так называемых «молчащих», или псевдогенов, что является результатом адаптации чумного микроба к облигатному паразитизму [2].

От псевдотуберкулезного микроба возбудитель чумы получил ряд генетических детерминант факторов вирулентности, среди которых гены *inv* и *yadA*, играющие важную роль при энтеропатогенной инфекции, вызываемой *Y. pseudotuberculosis* [3, 4]. Кодированный геном *inv* белок внешней мембраны инвазин (Inv) взаимодействует с β_1 -интегрином М-клеток пейеровых бляшек подвздошной кишки, обеспечивая колонизацию и инвазию возбудителем слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта [1, 6].

По данным проведенного нами сравнительного компьютерного анализа, ген *inv* у всех штаммов *Y. pestis* основного подвида, представленных в базе данных NCBI GenBank, инактивирован вставкой IS-элемента, что предполагает нарушение его функциональной активности. Однако остается не ясным, сохранилась ли структурная целостность гена *inv* у неосновных подвидов возбудителя чумы, занимающих эволюционно более близкое положение к возбудителю псевдотуберкулеза. Данные по этому вопросу в литературе отсутствуют, как и данные о структуре этого гена у штаммов основного подвида, циркулирующих на территории РФ и сопредельных государств. В связи с этим целью нашего исследования было изучение особенностей структурной организации гена *inv* у штаммов *Y. pestis* основного и неосновных подвидов различного происхождения в сравнении со штаммами псевдотуберкулезного микроба.

Результаты и обсуждение

В начале исследований был проведен сравнительный компьютерный анализ нуклеотидной последовательности хромосомного локуса, содержащего

ген *inv* у штаммов *Y. pestis* KIM (биовар *medievalis*), CO92 (биовар *orientalis*), Antiqua, Nepal516 (биовар *antiqua*), 91001 (биовар *microtus*), Pestoides F (кавказский подвид) и *Y. pseudotuberculosis* PB1/+, IP 32953, IP 31758, YPIII, представленных в базе данных NCBI GenBank. В результате было установлено, что размер гена *inv* у псевдотуберкулезного микроба составляет 2963 п.н. В отличие от него ген *inv* у штаммов *Y. pestis* имеет гораздо больший размер – 3669 п.н., что свидетельствует о внедрении инсерционной последовательности и его инактивации.

Обработка полученных результатов с использованием программного обеспечения NCBI BLAST показала, что инаktivация гена *inv* у возбудителя чумы происходит за счет вставки инсерционной последовательности IS1541 (708 п.н.) после 906 п.н. (302 кодона). С помощью программы Primer Express нами была рассчитана пара праймеров: *inv*839 (TACCTGCACTCCCAACAAC) – *inv*1007 (CCCATACGCTGATCTACC), фланкирующая область вставки IS1541 (рис. 1). Амплификацию фрагмента гена *inv* в ПЦР осуществляли по следующей схеме: 1 цикл 94 °C в течение 5 мин, затем 35 циклов при 94 °C 45 с, 56 °C 1 мин, 72 °C 45 с и завершающий цикл 3 мин при 72 °C. Синтез олигонуклеотидных праймеров, проводили на автоматическом синтезаторе ДНК АСМ-800 (Биосет, Россия) в РосНИПЧИ «Микроб».

Для изучения структуры гена *inv* у основного и неосновных подвидов *Y. pestis* нами было использовано 18 штаммов, циркулирующих в природных очагах СНГ и Монголии. Основной подвид был представлен 5 штаммами из Устьюртского, Тувинского, Сарыджазского, Забайкальского и Приараксинского очагов чумы (таблица). Неосновные подвиды включали 13 штаммов, в том числе 3 изолята кавказского (Присеванский, Ленинанканский, Приараксинский очаги Кавказа и Закавказья), 3 – алтайского (Алтайский горный очаг), 3 – гиссарского (Гиссарский высокогорный очаг), 2 – улэгейского (Монголия) подвидов чумного микроба и 2 штамма из Таласского (Киргизия) высокогорного очага чумы (таблица). Кроме того, было изучено 12 штаммов

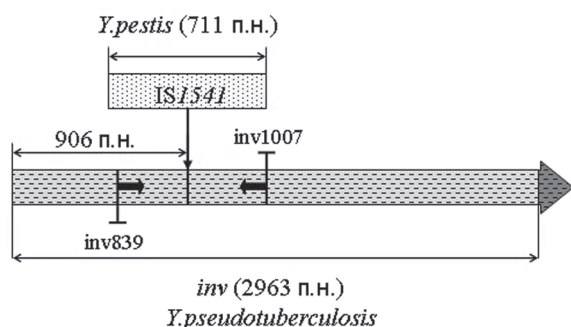


Рис. 1. Структура гена *inv* и место вставки *IS1541* у чумного микроба. Стрелками указаны места посадки использованных праймеров *inv839*–*inv1007*

Y. pseudotuberculosis, представленных в коллекциях Таля и Молляре, а также выделенных на территории Дальнего Востока и Туркмении (таблица). Штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб», где они хранились в лиофильно высушенном состоянии.

У всех использованных в работе штаммов чумного и псевдотуберкулезного микробов проведено изучение гена *inv* с использованием рассчитанной нами пары праймеров *inv839*–*inv1007*. В ПЦР-анализе размер амплификата у всех штаммов *Y. pseudotuberculo-*

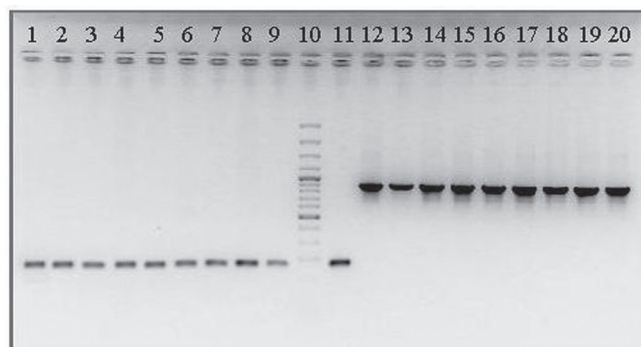


Рис. 2. ПЦР-анализ гена *inv* у штаммов возбудителя чумы и псевдотуберкулеза: 1–9, 11 – *Y. pseudotuberculosis*: V, 68(48), VI, IV, 110 (VI), 417, 67/16, 312, 69(32), 70(25); 12–13 – основной подвид: А-161, И-1270; 14–15 – кавказский подвид: 376, 3551; 16–17 гиссарский подвид: А-1728, А-1633; 18 – алтайский подвид: 4857; 19 – улэгейский подвид: И-3069; 20 – таласская группа: А-1807; 10 – маркер молекулярных масс (GenRuler TM 50 bp)

sis (рис. 2, дорожки 1–9, 11) составлял 169 п.н., что соответствовало размеру фрагмента, образуемого у интактного гена. Фрагменты гена *inv* у штаммов *Y. pestis* основного и неосновных подвидов имели большую молекулярную массу (877 п.н.), что свидетельствовало о наличии вставки *IS1541* (рис. 2, дорожки 12–20).

Штаммы *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, использованные в работе

Штаммы, серовары	Время и место (очаг) выделения	Источник выделения
<i>Y. pestis</i>		
Основной п/в		
А-161	1962 г., Устюртский пустынный	Блохи с большой песчанки
И-2638	1977 г., Тувинский горный	Вши с даурского суслика
А-1836	1983 г., Сарыджазский высокогорный	Серый сурок
И-1270	1966 г., Забайкальский степной	Даурский суслик
805	1968 г., Приараксинский низкогорный	Песчанки Виноградова
Кавказский п/в		
376	Ленинканский горный	Общественная полевка
3551	1979 г., Присеванский горный	Блохи обыкновенной полевки
818	1968 г., Приараксинский низкогорный	Блохи обыкновенной полевки
Улэгейский п/в		
И-3131	1984 г., Южно-Габийский аймак, МНР	Монгольская пищуха
И-3069	1982 г., Убурхангай, МНР	Полевка Брандта
Алтайский п/в		
КМ1205	1993 г., Алтайский горный	Монгольская пищуха
4857	1965 г., Алтайский горный	Труп пищухи
И-2359	1973 г., Алтайский горный	Блохи гнезда монгольской пищухи
Гиссарский п/в		
А-1728	1972 г., Гиссарский высокогорный	Арочная полевка
А-1730	1970 г., Гиссарский высокогорный	Блохи гнезда арочной полевки
А-1633	1970 г., Гиссарский высокогорный	Блохи арочной полевки
Таласская гр.		
А-1815	Таласский высокогорный	<i>Ceratophyllus caspans</i>
А-1807	Таласский высокогорный	<i>Ceratophyllus caspans</i>
<i>Y. pseudotuberculosis</i>		
312	1973 г., Дальний восток	Человек
417	1976 г., холмоторье Бадхыз (Туркмения)	Краснохвостая песчанка
68(48), 110(VI), 67/16, 69(32), 70(25)	Коллекция Таля	
II, III, IV, V, VI	Коллекция Молляре	

Таким образом, с применением пары праймеров inv839–inv1007 в ПЦР-анализе нам удалось установить присутствие вставки IS1541 в гене *inv* у высоко-вирулентных штаммов основного, а также у неосновных подвидов *Y. pestis*, циркулирующих в природных очагах на территории РФ и сопредельных государств. По-видимому, отсутствие необходимости колонизировать слизистую кишечника при новом механизме развития инфекционного процесса привело к инактивации гена *inv* у чумного микроба. Обнаружение гена *inv* в состоянии псевдогена уже у более древних неосновных подвидов, занимающих промежуточное положение между псевдотуберкулезным микробом и основным подвидом возбудителя чумы, свидетельствует о потере его функционального значения на ранних этапах эволюции вида *Y. pestis*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 07-04-00100, 08-04-00731 и 08-04-12082 офи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каратаев Г.М., Марков А.Р., Синяшина Л.Н. и др. Сравнительное изучение роли *yadA*, *invA* и *psaA*-генов в патогенности *Yersinia pseudotuberculosis*. Мол. генет. 2008; 4:10–8.
2. Куклева Л.М., Проценко О.А., Кутырев В.В. Современные представления о родстве возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. Мол. генет. 2002; 1:3–7.
3. Хабаров А.В., Кутырев В.В. Характеристика инвазивных свойств возбудителей чумы и псевдотуберкулеза в отношении морских свинок и белых мышей. В кн.: Эпидемиол., микробиол. и иммунол. бактериальных и вирусных инфекций: Тез. докл. обл. науч. конф. молодых ученых; 17–20 октября 1989; Ростов-на-Дону. Ростов н/Д; 1989. С. 51–3.
4. Hoiczky E., Roggenkamp A., Reichenbecher M. et al. Structure

and sequence analysis of *Yersinia* *YadA* and *Moraxella* *UspAs* reveal a novel class of adhesions. EMBO. 2000; 19:5989–99.

5. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R. et al. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. Nature. 2001; 413:523–7.

6. Simonet M., Riot B., Fortineau N. et al. Invasin production by *Yersinia pestis* is abolished by insertion of an IS200-like element within the *inv* gene. Infect. Immun. 1996; 64:375–9.

Об авторах:

Одиноков Г.Н., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российской научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

G.N.Odinokov, G.A.Eroshenko, V.V.Kutyrev

Comparative Analysis of *inv* Gene Structure in Strains of Plague and Pseudotuberculosis Agents

Russian Anti-Plague Research Institute “Microbe”, Saratov

Gene *inv* encoding one of the important pathogenicity factors of pseudotuberculosis agent was analyzed as regards its structure and function in plague microbe of the main and non-main subspecies and pseudotuberculosis microbe. The structure of gene *inv* was shown to be affected by introduction of insertion sequence IS1541 in all studied *Yersinia pestis* strains of non-main and main subspecies. This evidences that the loss of functional activity of this gene took place at initial stage of plague agent evolution.

Key words: plague and pseudotuberculous agents, invasion and adhesion factor, gene, mutation.

Authors:

Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Russian Anti-Plague Research Institute “Microbe”. 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 15.12.08.

Г.А.Афанасьева¹, Н.П.Чеснокова¹, В.В.Кутырев²**О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ЭРИТРОЦИТОВ И НАРУШЕНИЙ
РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ**¹ГОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет,²ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

К числу ведущих патогенетических факторов расстройств регионарного кровотока и микроциркуляции при чумной интоксикации, индуцируемой липополисахаридом (ЛПС) *Y.pestis*, относятся снижение вязкости крови при различных скоростях сдвига, индексов деформируемости и агрегации эритроцитов, коррелирующее с тяжестью клинических проявлений патологии. Эфферентным звеном цитопатогенных эффектов ЛПС чумного микроба является активация свободнорадикального окисления и формирование недостаточности антиоксидантной системы.

Ключевые слова: чума, патогенез, ЛПС, антиоксидантная система.

Высокореактогенным компонентом эндотоксинов различных грамотрицательных бактерий, в том числе возбудителя чумы, является липополисахарид (ЛПС), обладающий полимодальными биологическими эффектами в виде расстройств системной гемодинамики, регионарного кровотока, микроциркуляции, нарушений тромбоцитарно-сосудистого, коагуляционного гемостаза и развития циркуляторной гипоксии [3, 5, 9, 13, 15].

Установлено, что эфферентным звеном гипоксического некробиоза тканей является активация процессов липопероксидации (ЛПО), сопровождающаяся дестабилизацией цитоплазматических, митохондриальных и лизосомальных мембран, закономерными последствиями которой является нарушение функций клеток и развитие цитолиза [1, 2, 10, 11].

До настоящего момента остается неизученной роль недостаточности антирадикальной защиты клеток крови в механизмах нарушений реологических свойств, расстройств микроциркуляции при чумной ЛПС-интоксикации.

Целью настоящей работы явилось установление взаимосвязи между изменением интегративных показателей состояния реологических свойств крови при различных скоростях сдвига, а также состоянием активности антиоксидантной системы (АОС) крови, в частности количеством эритроцитов, степенью выраженности нарушений стабильности их мембран в динамике чумной ЛПС-интоксикации, уровнем активности супероксиддисмутазы и содержанием витамина Е в крови.

Материалы и методы

Исследования проведены на стадиях ранних и тяжелых клинических проявлений чумной ЛПС-интоксикации, которые развивались, соответственно, спустя 1,5–2 и 4 ч после внутрибрюшинного введения беспородным белым мышам обоего пола массой

18–20 г фракции ЛПС эндотоксина в дозе, эквивалентной ЛД₅₀. ЛПС приготовлен в ФГУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора из штамма *Yersinia pestis* 358/12 методом Вестфаля-Людеритца и осажден смесью спирта и ацетона [5, 13].

Для оценки состояния АОС системы крови исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) цельной крови, уровень витамина Е сыворотки крови, а также переокисную резистентность эритроцитов (ПРЭ) общепринятыми спектрофотометрическими методами [4, 6, 12].

Количественные и качественные характеристики форменных элементов периферической крови изучены с помощью аппарата Sysmex K-1000.

Для изучения вязкости крови использован анализатор крови реологический (АКР-2, АОЗТ «Мелт», Россия). Оценка состояния реологических свойств крови проведена при различных скоростях сдвига (от 5 до 300 с⁻¹) с последующим расчетом индексов деформируемости (ИДЭ) и агрегации (ИАЭ) эритроцитов [8].

Результаты и обсуждение

При исследовании реологических свойств крови в экспериментах, проведенных спустя 1,5–2 ч после введения ЛПС белым мышам, обнаружено снижение вязкости крови при всех скоростях сдвига ($p \dots p < 0,001$) (рис. 1), а также ИДЭ ($p < 0,001$) и ИАЭ ($p < 0,001$).

Как известно, основными факторами, определяющими состояние реологических свойств крови, являются количество эритроцитов, деформируемость их мембран, содержание высокомолекулярных белков, полисахаридов в крови, а также адгезивно-агрегационная способность клеток крови и эндотелия сосудов [8].

Касаясь механизмов развития выявленного нами феномена уменьшения вязкости крови при низких скоростях сдвига при чумной ЛПС-интоксикации,

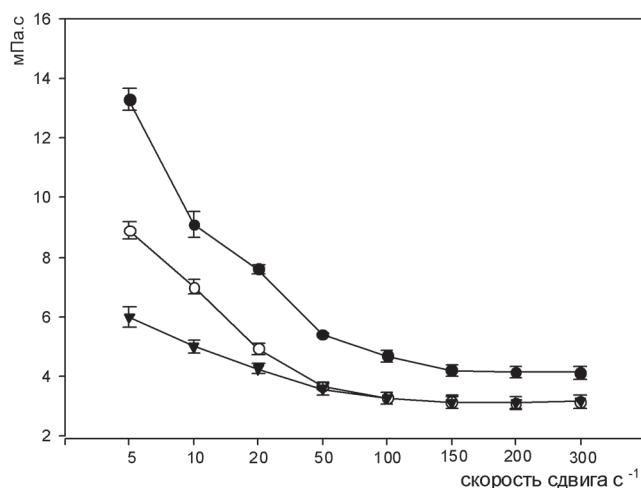


Рис. 1. Изменения вязкости крови у белых мышей в динамике чумной ЛПС-интоксикации (ЛПС в дозе, эквивалентной ЛД₅₀): —●— контроль; —○— через 1,5–2 ч; —▼— через 4 ч

следует отметить, в соответствии с данными литературы, определенную патогенетическую значимость снижения коагуляционного потенциала крови, активации процессов фибринолиза и уменьшения уровня фибриногена [7].

Результаты проведенных нами экспериментальных исследований количественных сдвигов со стороны красной крови на стадии ранних клинических проявлений ЛПС-интоксикации, действительно свидетельствуют о развитии эритропении ($p < 0,001$) (рис. 2), увеличении процента гемолизированных эритроцитов (таблица), что, безусловно, указывает на гемолитическое происхождение выявленной анемии.

В связи с этим очевидна важная роль обнаруженных нами количественных изменений со стороны эритроцитарного звена в нарушениях вязкости крови

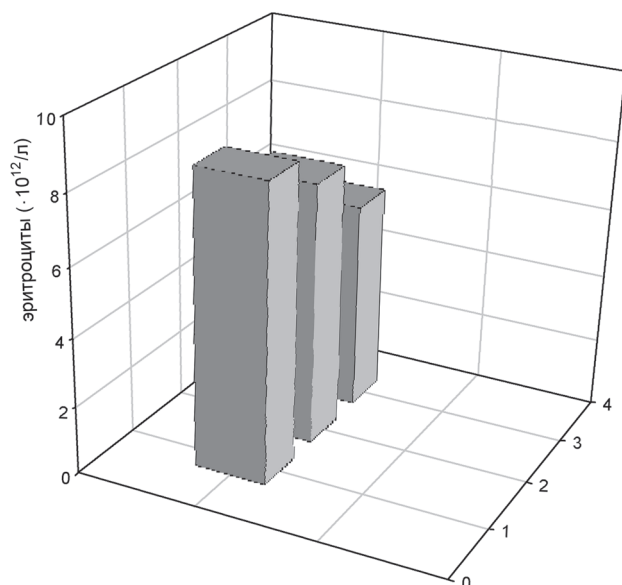


Рис. 2. Количество эритроцитов в крови белых мышей в динамике чумной ЛПС-интоксикации (ЛПС в дозе, эквивалентной ЛД₅₀): 1 — контроль; 2 — через 1,5–2 ч; 3 — через 4 ч

на ранней стадии чумной ЛПС-интоксикации.

Известно, что вязкостные свойства крови при высоких скоростях сдвига в значительной степени определяются не только количеством эритроцитов, но и состоянием структуры их мембран, способностью эритроцитов к адгезии, агрегации и деформируемости [8].

В проведенных нами ранее исследованиях в аналогичных условиях экспериментов установлено избыточное накопление в крови промежуточных продуктов ЛПО, обеспечивающих модификацию липидных и белковых компонентов цитоплазматических мембран клеток крови и эндотелия сосудов [1, 2].

В связи с этим не исключено, что обнаруженное нами снижение вязкости крови при средних и высоких скоростях при чумной интоксикации связано с дезорганизацией структуры эритроцитарных мембран на фоне активации ЛПО и недостаточности АОС клеток крови. Однако до настоящего момента в литературе мы не встретили данных, устанавливающих патогенетическую взаимосвязь между недостаточностью АОС крови и нарушением ее реологических свойств.

Как показали результаты проведенных нами далее исследований, дестабилизация эритроцитарных мембран и развитие гемолиза эритроцитов в ранний период интоксикации происходили на фоне уменьшения содержания α -токоферола в сыворотке крови экспериментальных животных. Известно, что α -токоферол является одним из неферментных антирадикальных факторов, способных нейтрализовать кислородные радикалы на этапах продолжения и разветвления цепей свободнорадикального окисления [4, 11].

В последующих экспериментах представлялось целесообразным установить, сохраняется ли выявленная нами закономерность взаимосвязи снижения вязкости крови при высоких и низких скоростях сдвига с недостаточностью антирадикальной защиты клеток крови по мере прогрессирования чумной ЛПС-интоксикации.

Как оказалось, утяжеление клинических проявлений патологии, развитие адинамии, лихорадки, цианоза, единичных летальных исходов эксперимен-

Показатели активности антиоксидантной системы крови при чумной ЛПС-интоксикации (доза ЛПС, эквивалентная ЛД₅₀)

Показатели	Контроль M±m	Стадии патологии	
		через 1,5–2 ч M±m	через 4 ч M±m
Каталаза (плазма), мккатал/мл	110,9±2,2	120,3±4,6	104,2±3,7
Каталаза (эритроциты), мккатал/мл	1288,4±36,8	1377,9±16,9**	1344,7±60,5
СОД (цельная кровь), усл.ед	356,8±3,7	389,9±5,7*	332,5±6,9*
α -токоферол, Ед/мл (сыворотка крови)	13,98±0,4	10,18±0,54*	7,44±0,59*
ПРЭ, %	4,54±0,08	20,67±0,28*	47,78±1,59*

Примечания:

1. Звездочками отмечены достоверные различия с соответствующими показателями контрольной серии: * — $p < 0,001$, ** — $p < 0,02$.
2. n = 15–20 во всех сериях экспериментов.

тальных животных спустя 4 ч после введения животным ЛПС в дозе, эквивалентной ЛД₅₀, коррелировало с дальнейшим снижением вязкости крови при низких и средних скоростях сдвига (рис. 1). Уменьшение перекисной устойчивости эритроцитов (таблица), ИДЭ ($p < 0,001$), ИАЭ ($p < 0,001$) закономерно сочеталось с прогрессирующей анемией ($p < 0,001$) (рис. 2). Одновременно усугублялась недостаточность антирадикальной защиты клеток: снижалось содержание α -токоферола в сыворотке крови, уменьшалась активность СОД цельной крови как по сравнению с таковыми показателями предыдущей стадии интоксикации, так и по сравнению с показателями группы контрольных животных (таблица).

Таким образом, одним из патогенетических факторов прогрессирующего снижения вязкости крови в динамике чумной ЛПС-интоксикации лежит недостаточность антирадикальной защиты клеток крови, в том числе эритроцитов, и развитие эритропении.

Касаясь детализации молекулярно-клеточных механизмов влияния свободных радикалов на реологические свойства крови, в частности, состояние деформируемости и агрегации эритроцитов, следует отметить, что активные формы кислорода способны модифицировать плазменные белки и, тем самым, подавлять их способность к ингибированию сериновых лейкоцитарных протеаз широкой субстратной специфичности, освобождающихся под влиянием летальных доз ЛПС [14].

Однако свободные радикалы, являющиеся акцепторами H^+ и, соответственно, мощными окислителями, обладают способностью прежде всего модифицировать липидные и белковые компоненты биологических мембран клеток различной морфофункциональной организации, обеспечивая повышение проницаемости цитоплазматических мембран, индуцировать процессы дегрануляции клеток крови и/или развитие синдрома цитолиза [1].

Таким образом, полученные нами результаты позволяют заключить, что к числу ведущих патогенетических факторов расстройств регионарного кровотока и микроциркуляции при чумной интоксикации, индуцируемой ЛПС *Y. pestis*, относятся снижение вязкости крови при различных скоростях сдвига, а также индексов деформируемости и агрегации эритроцитов, коррелирующее с тяжестью клинических проявлений патологии. Эфферентным звеном цитопатогенных эффектов ЛПС чумного микроба является активация свободнорадикального окисления.

На ранней стадии чумной ЛПС-интоксикации возникает абсолютный дефицит α -токоферола – ферментного фактора антирадикальной защиты клеток различной морфофункциональной организации. По мере прогрессирования ЛПС-интоксикации присоединяется недостаточность активности СОД – одного из ферментов АОС клеток.

Активация процессов свободнорадикального окисления является одним из факторов дестабилизации биологических мембран клеток крови, повыше-

ния их проницаемости, индукции процессов дегрануляции и/или цитолиза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П. О роли активации процессов перекисного окисления липидов в патогенезе бактериального эндотоксикоза. Фундаментальные исследования. 2008; 3:53–6.
2. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Будник И.А. О патогенетической значимости активации процессов липопероксидации в механизмах нарушений реологических свойств крови при бактериальном эндотоксикозе. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2008; 1:3–8.
3. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г. и др. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2004; 3:98–105.
4. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Г., Щербакова О.И. Методы определения витамина Е в сыворотке крови. Тер. архив. 1983; 6:76–8.
5. Дальвадянц С.М., Белобородов Р.А. Изучение токсических свойств антигена, изолированного из чумного микроба по методу Вестфал-Людеритца. Пробл. особо опасных инф. 1969; 2(6):138–42.
6. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело. 1988; 1:16–9.
7. Понукалина Е.В., Маслякова Г.Н., Ковалев В.И. и др. Патогенез геморрагического синдрома при чумной интоксикации. Саратов; 1990. С. 9–20.
8. Ройтман Е.В., Фирсов Н.Н., Дементьева М.Г. и др. Термины, понятия и подходы к исследованиям реологии крови в клинике. Тромбоз, гемостаз и реология. 2000; 3(3):5–12.
9. Сварваль А.В., Ценева Г.Я., Шендерович О.А. Липополисахарид иерсиний и его биологическая активность. Журн. микробиол. 2006; 3:100–4.
10. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. Соровский Образовательный Журнал. 2001; 7(6):4–10.
11. Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов. Саратов; 2006. 177 с.
12. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase. Biochimie. 1975; 57:657–60.
13. Luderitz O., Freudenberg M.A., Galanos C. et al. Lipopolysaccharide of gram-negative bacteria. Curr. Top. Membr. Transport. 1982; 17:79–134.
14. Naskalski J.W., Marcinkiewicz J., Drozd R. Myeloperoxidase – mediated protein oxidation: its possible biological functions. Clin. Chem. Lab. Med. 2002; 40(5):463–8.
15. Tapper H., Herwald H. Modulation of hemostasis mechanisms in bacterial infections diseases. Blood. 2000; 96(7):2329–37.

Об авторах:

Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Саратовский государственный медицинский университет. 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112. Тел.: (845-2) 66-97-91. E-mail: gafanaseva@yandex.ru
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

G.A.Afanaseva, N.P.Chesnokova, V.V.Kutyrev

Pathogenesis Interrelation of Insufficiency of Erythrocytes Antiradical Protection and Disturbance of Blood Rheological Properties in Bacterial Endotoxemia

Saratov State Medical University,
Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Among the leading pathogenesis factors of disorders of regional blood flow and microcirculation in plague intoxication induced by *Y. pestis* lipopolysaccharide (LPS) are decreases of blood viscosity at various shift rates, indices of erythrocyte deformation and aggregation that correlate with severity of clinical manifestation. Efferent part of LPS cytopathogenic effects of plague microbe is enhancement of free-radical oxidation and formation of anti-oxidative system deficiency.

Key words: plague, pathogenesis, LPS, anti-oxidative system.

Authors:

Afanaseva G.A., Chesnokova N.P. Saratov State Medical University. 410012, Saratov, B.Kazach'a St., 112. E-mail: gafanaseva@yandex.ru
Kutyrev V.V. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 23.12.08.

Д.А.Будыка, Н.В.Абзаева, С.М.Руднев, Г.Ф.Иванова, А.А.Фисун,
С.Е.Гостищева, А.И.Бондаренко

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ПРИВИТЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ, И В РАЗЛИЧНЫХ СХЕМАХ ИНФИЦИРОВАНИЯ ЧУМНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь

Проведены исследования динамики факторов бактерицидной активности (катионные белки и миелопероксидаза) в полиморфно-ядерных лейкоцитах (ПМЯЛ) периферической крови беспородных белых мышей, иммунизированных против чумы и при развитии чумной инфекции в различной модификации инфекционного процесса. Устойчивость к чуме у белых мышей коррелирует с защитной функцией ПМЯЛ, обеспечиваемой главным образом МПО-системой при вспомогательном участии КБ-системы. Изменение уровня активности МПО и КБ ПМЯЛ может служить косвенным показателем степени устойчивости белых мышей к чумной инфекции.

Ключевые слова: полиморфно-ядерные лейкоциты, миелопероксидаза, катионные белки, иммуногенность, феномен «переживания».

Введение в организм живой чумной вакцины или вирулентного штамма чумного микроба влечет за собой развитие ответной реакции, механизм которой описан достаточно подробно. Создание поствакцинального иммунитета при этом обеспечивают гуморальные и клеточные факторы [9]. При этом считается общепризнанным, что иммунитет при чуме обусловлен, прежде всего, клеточными факторами специфической и неспецифической защиты, в том числе фагоцитарными элементами.

При изучении природы противочумного иммунитета уже первые исследователи отметили важное значение фагоцитоза (фагоцитирование чумных микробов макро- и микрофагами). Было установлено, что при чумной инфекции в неиммунном восприимчивом организме фагоцитоз носит незавершенный характер, что приводит к размножению возбудителя, генерализации инфекции и гибели организма. В иммунном организме имеет место завершенный фагоцитоз так же, как и у естественно резистентных к чуме животных.

Несмотря на важное значение фагоцитоза для конечного исхода чумной инфекции необходимо учитывать, что на стадии захвата микробов фагоцитоз относится к неспецифическим факторам защиты, обеспечивающим состояние «иммунологического гомеостаза», и во многом зависит от функционирования специфических механизмов.

Установлено, что в процессе иммуногенеза при чуме происходит перестройка кислородзависимого метаболизма, которая имеет периодический (фазный) характер. Изучение кислородзависимого метаболизма фагоцитов проводится по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест). Отражая реакцию ферментных систем полиморфно-ядерных лейкоцитов, ответственных за их цитотоксический потенциал, НСТ-тест позволяет оценить бактерицидный потенциал этого пула лейкоцитов. Показана корреляционная связь между интенсивностью НСТ-теста и способностью лейкоцитов к завершенному

фагоцитозу. НСТ-тест можно использовать как один из показателей противочумного иммунитета.

Однако главными факторами бактерицидной активности систем полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) являются кислородзависимая миелопероксидаза (МПО) и кислороднезависимые неферментные катионные белки (КБ). Для оценки инфекционного воздействия, а также эффективности бактерицидной защиты при иммунизации и заражении чумными микробами нами была исследована динамика факторов бактерицидной активности в полиморфно-ядерных лейкоцитах периферической крови беспородных белых мышей.

Материалы и методы

Показатели МПО и КБ определяли в ПМЯЛ периферической крови беспородных белых мышей. Кровь брали из хвостовой вены в разные сроки исследования, делали мазки, обеззараживали в смеси Никифорова и окрашивали на КБ по методу В.Е.Пигаревского [5] и на МПО, пользуясь методикой В.Б.Лецкого [3].

Проведены контрольные исследования динамики изменения исследуемых показателей у животных, инфицированных различными дозами вирулентного штамма чумного микроба *Y. pestis* 461, 1 ЛД которого равняется 50 м.к. Белых мышей в количестве 24 заражали 2–3, 10, 50 и 250 м.к. по 6 мышей на дозу (1, 2, 3 и 4-я группы). У всех выживших после инфицирования животных брали кровь на 2, 7 и 10-е сутки протекания инфекционного процесса. Затем были смоделированы два различных типа инфекционного процесса, в которых проведено исследование аналогичных показателей.

Первоначально искомые показатели у мышей исследовали согласно методике определения иммуногенности коммерческого препарата чумной вакцины (штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ), изложенной в нормативной документации (НД) на препарат

[6]. Экспериментальных животных иммунизировали подкожно дозами $8 \cdot 10^2$, $4 \cdot 10^3$, $2 \cdot 10^4$ и 10^5 микробных клеток (м.к.), исходя из ранее определенного количества их в препарате вакцины. Кровь исследовали на 7, 14 и 21-е сутки после иммунизации. На 21-е сутки после вакцинации проводили подкожное заражение 200 ЛД вирулентного штамма чумного микроба штамма *Y. pestis* 461 (1 ЛД=50 м.к. для белых мышей). Наблюдение за зараженными животными вели в течение 21 сут. На 1, 3, 7, 14 и 21-е сутки после заражения у выживших животных в мазках крови определяли активность МПО и содержание КБ.

Далее провели идентичные исследования по активности бактерицидных систем полиморфно-ядерных лейкоцитов в феномене «переживания» [1]. Последний характеризует иммуногенность вакцинного штамма, использованного в смеси с вирулентным. Четырем группам животных (I К, II К, III К и IV К) вводили комбинацию из вакцины чумной (10^7 м.к.) и 461 штамма (2, 20, 200 и 2000 ЛД соответственно группам). Активность МПО и содержание КБ определяли на 1, 3, 7, 14 и 21-е сутки после заражения.

Все данные по бактерицидной активности ПМЯЛ обработаны статистически. У интактных животных показатели МПО составили $1,09 \pm 0,07$; КБ – $1,6 \pm 0,03$.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных показал, что инфицирование существенно влияет на исследуемые показатели ПМЯЛ. Отмечено, что содержание КБ в ПМЯЛ периферической крови достоверно снижается во всех группах, особенно в период массовой гибели животных на 3–5-е сутки, когда в группах, инфицированных летальными дозами, падеж составил 100 %. По мере затухания инфекционного процесса происходит постепенное повышение уровня КБ у выживших животных ($0,95 \pm 0,03$; $1,04 \pm 0,12$ в 1-й и 2-й группах соответственно). Снижение активности МПО также сменяется повышением КБ на 10-е сутки ($1,11 \pm 0,08$ и $1,04 \pm 0,02$ соответственно) до уровня контроля (табл. 1).

По результатам проведенных исследований, выявлено, что заражение чумой вызывает снижение показателей бактерицидных систем ПМЯЛ интактных белых мышей пропорционально силе инфекционного воздействия, причем более адекватно реагирует кислородзависимая МПО-система. У мышей 1–2-й групп, инфицированных сублетальными дозами 2–3 и 10 м.к. штамма *Y. pestis*, 461 значение КБ и МПО после падения постепенно нарастало. Лишь в период основной гибели животных тенденция к падению активности бактерицидных систем была наиболее выражена и, по-видимому, отражала истощение защитного потенциала ПМЯЛ, что более всего проявилось у мышей 3 и 4-й групп, инфицированных 50 и 250 м.к. вирулентного штамма.

Анализ изменения активности бактерицидных систем у иммунных животных после заражения их вирулентной культурой показал, что происходит закономерное снижение содержания КБ во всех группах по сравнению с их значением к моменту заражения, особенно на 3–7-е сутки, что, по-видимому, связано с разгаром инфекционного процесса. В динамике активности МПО у данных животных также отмечается наименьшее ее значение в период развития чумной инфекции, особенно на 3-й и, отчасти, на 7-е сутки после инфицирования. На 14 и 21-е сутки четко прослеживается разделение подопытных животных на три группы. В первой группе, где животные проиммунизированы наименьшей дозой (800 м.к.), происходит снижение уровня МПО до $0,98 \pm 0,05$ достоверно к третьей группе ($t = 2,3$), куда объединены животные, получившие эффективные иммунизирующие дозы ($2 \cdot 10^4$ и 10^5 м.к.), показатель МПО у которых превысил контрольный и составил $1,13 \pm 0,03$. Данная тенденция прослеживается в картине падежа животных. При этом основной падеж животных пришелся на 7–10-е сутки и составил 70 % для первой группы и 28–30 % для третьей. Во второй, промежуточной, группе, где животные были проиммунизированы дозой $4 \cdot 10^3$ м.к., падеж составил 50 %, а показатели МПО достигли $1,02 \pm 0,02$, при этом недостоверность изменения данного показателя по сравнению с контролем ($1,09 \pm 0,07$) объясняется, скорее всего, ин-

Таблица 1

Бактерицидная активность ПМЯЛ белых мышей, зараженных вирулентным штаммом чумного микроба

Сроки исследования, сут		Группы животных / заражающая доза, м.к.			
		1 / 2–3	2 / 10	3 / 50	4 / 250
2	КБ	$1,09 \pm 0,03$	$1,20 \pm 0,06$	$0,99 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,03$
	МПО	$0,5 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,02$
7	КБ	$0,89 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,03$	-	-
	МПО	$0,76 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,03$	-	-
10	КБ	$0,95 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,12$	-	-
	МПО	$1,11 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,02$	-	-
Количество животных в опыте		6	6	6	6
Количество выживших животных		4	2	0	0
% выживших ($M \pm m$)		$66,7 \pm 20,8$	$33,3 \pm 21,1$	0	0

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3, 4 контроль: МПО – $1,09 \pm 0,07$; КБ – $1,6 \pm 0,03$.

Таблица 2

Бактерицидная активность ПМЯЛ белых мышей, иммунизированных против чумы, после заражения чумной инфекцией					
Сроки исследования, сут		Группы животных / дозы вакцины, м.к.			
		I / 8 · 10 ²	II / 4 · 10 ³	III / 2 · 10 ⁴	IV / 10 ⁵
1	КБ	1,26±0,11	1,38±0,11	1,19±0,04	1,21±0,07
	МПО	0,78±0,03	0,73±0,04	0,61±0,05	0,96±0,13
3	КБ	1,18±0,03	1,14±0,06	1,13±0,05	1,30±0,11
	МПО	0,67±0,05	0,66±0,05	0,66±0,05	0,61±0,07
7	КБ	1,05±0,02	1,16±0,11	1,30±0,05	1,18±0,08
	МПО	0,72±0,03	0,59±0,04	0,73±0,05	0,71±0,06
14	КБ	1,14±0,05	1,18±0,03	1,24±0,09	1,22±0,11
	МПО	0,80±0,04	0,88±0,05	0,80±0,04	0,78±0,04
21	КБ	1,14±0,02	1,19±0,08	1,21±0,03	1,21±0,02
	МПО	0,98±0,05	1,02±0,02	1,14±0,04	1,12±0,02
Количество животных в опыте		15	14	10	11
Количество выживших животных		5	7	7	9
% выживших (M ± m)		30,2±12,2	50±13,9	70±15,3	81,8±12,2

Примечание. Номера групп животных в таблицах 2 и 3 идентичны.

дивидуальной устойчивостью биомодели к чумной инфекции. Что касается КБ, то первая группа дает достоверное снижение показателя (1,14±0,02) как по сравнению с контрольным значением ($t = 12,8$), так и по сравнению с третьей группой ($t = 2,5$), показатель которой составил 1,21±0,03. Во второй группе, где выжило 50 % животных, уровень КБ промежуточный (1,19±0,08), при этом достоверно его значение только по сравнению с контролем. В целом же уровень КБ остается достоверно ниже показателя как на момент заражения, так и у интактных животных (табл. 2).

Таким образом, после заражения иммунных к чуме белых мышей выявлена защитная функция бактерицидных факторов ПМЯЛ периферической крови, обеспечиваемая обеими системами: МПО и КБ. При этом роль МПО-системы, по нашим данным, предпочтительней, хотя система КБ проявляла склонность к более серьезному истощению и не восстанавливалась к 21-м суткам – продуктивной фазе поставочного иммунитета против чумы. Такая динамика несомненно свидетельствует в пользу задействования в бактерицидной защите ПМЯЛ и системы КБ.

Что касается изменения исследуемых показателей ПМЯЛ после иммунизации, то, хотя содержание КБ в ПМЯЛ периферической крови мышей снижается во всех группах, у животных, которым вводили 10⁵ м.к. вакцины, указанное снижение было менее выраженным. У данных животных к 21-м суткам

происходило даже восстановление до контрольных величин. В общем плане также просматривается увеличение содержания КБ к 21-м суткам после иммунизации, однако указанные значения остаются статистически ниже аналогичного показателя контроля. Также закономерно на иммунизацию реагирует кислородзависимый фактор бактерицидности – МПО. Вначале происходит подъем, хотя и не равнозначно у разных групп мышей, активности фермента, затем к 14-м суткам активность МПО у всех мышей падает до контрольных величин, к 21-м отмечено максимальное снижение активности МПО в ПМЯЛ периферической крови (табл. 3).

Таким образом, выявлено, что иммунизация в соответствии с НД [6] вызывает снижение показателей бактерицидных систем ПМЯЛ у белых мышей в процессе формирования поствакцинального иммунитета к чуме.

Смоделированный инфекционный процесс в феномене «переживания» показал довольно четкое и стереотипное реагирование обоих изучаемых факторов бактерицидности ПМЯЛ крови белых мышей в данной экспериментальной системе. Указанное воздействие сопровождалось закономерным существенным снижением уровня КБ в динамике развития инфекционного процесса. Сопряженно реагирует и МПО система ПМЯЛ, закономерно повторяя динамику снижения активности на 1, 3-е и особенно на

Таблица 3

Бактерицидная активность ПМЯЛ белых мышей, привитых против чумы					
Сроки исследования, сут		Группы животных / дозы вакцины, м.к.			
		I / 8 · 10 ²	II / 4 · 10 ³	III / 2 · 10 ⁴	IV / 10 ⁵
7	КБ	1,13±0,09	1,16±0,05	1,13±0,09	1,21±0,09
	МПО	1,78±0,01	1,13±0,05	1,19±0,11	1,34±0,05
14	КБ	1,27±0,06	1,30±0,04	1,21±0,1	1,19±0,1
	МПО	1,30±0,1	1,22±0,09	1,05±0,06	1,24±0,13
21	КБ	1,27±0,09	1,32±0,1	1,19±0,05	1,38±0,1
	МПО	0,70±0,08	0,88±0,13	0,78±0,09	0,78±0,05

Таблица 4

Бактерицидная активность ПМЯЛ белых мышей в феномене «переживания»

Сроки исследования, сут		Группы животных			
		I К	II К	III К	IV К
1	КБ	1,21±0,09	1,10±0,02	1,06±0,05	1,16±0,05
	МПО	0,79±0,08	0,83±0,03	0,84±0,02	0,86±0,06
3	КБ	1,13±0,03	1,10±0,05	1,05±0,03	1,08±0,00
	МПО	0,64±0,04	0,74±0,04	0,66±0,09	0,83±0,02
7	КБ	1,11±0,03	1,11±0,11	1,02±0,02	1,00±0,00
	МПО	0,72±0,04	0,66±0,05	0,53±0,07	0,72±0,00
14	КБ	1,08±0,03	1,17±0,06	1,00±0,00	1,08±0,00
	МПО	0,73±0,05	0,83±0,04	0,93±0,09	0,86±0,00
21	КБ	1,21±0,06	1,12±0,04	1,18±0,13	1,08±0,00
	МПО	0,96±0,09	0,95±0,02	1,15±0,05	1,28±0,00
Количество животных в опыте		6	6	6	6
Количество выживших животных		5	4	3	1
% выживших ($M \pm m$)		83,3±16,7	66,7±21,1	50±22,4	16,7±16,7

7-е сутки наблюдения. На 10–14-е сутки произошел основной падеж биомодели, совпавший с истощением потенциала бактерицидной активности ПМЯЛ. У выживших животных постепенно нарастал уровень как КБ, так и МПО, особенно на 21-е сутки наблюдения, при этом активность МПО на 14-е сутки уже достигала ее величины на старте инфекционного воздействия (через 1 сут), а на 21-е сутки активность ферментной системы полностью восстанавливалась до контрольных (интактных) показателей (табл. 4).

При этом выявлена интересная закономерность: в группах животных, получивших наименьшее количество вирулентных микробов в смеси I К и II К (10^2 и 10^3 м.к.), показатели МПО возросли сравнительно умеренно ($0,96 \pm 0,09$ и $0,95 \pm 0,02$ соответственно), а устойчивость к инфекции была наивысшей. В то же время незначительный процент выживших мышей в группах III К и IV К, инфицированных соответственно 10^4 и 10^5 м.к., отреагировал значительно более высокими показателями МПО $1,15 \pm 0,05$ и $1,28 \pm 0,0$, что, возможно, свидетельствует об интегрирующем воздействии вирулентного, либо вакцинного штаммов в разных фазах эксперимента. То есть при совместном введении вирулентных и вакцинных микробов выявлена стереотипная реакция исследуемых показателей защитной системы организма белых мышей, реализуемая на уровне бактерицидных факторов (КБ и МПО) ПМЯЛ крови животных.

Следовательно, в эксперименте по изучению иммуногенности живой чумной вакцины показатель для КБ на 21-е сутки составил 1,3, а активность МПО в эти сроки была ниже 1,0, но выше 0,7 (соответствует минимальной иммунизирующей дозе 800 м.к.). При заражении иммунными оказались мыши с показателями КБ через 3 недели не менее 1,21 и с активностью МПО выше 1,0. Очень близкие показатели оказались в эти же сроки и в феномене «переживания»: КБ не менее 1,1, а активность МПО у выживших животных близка к 1,0, причем у устойчивых к высоким дозам

инфекции в смеси – превышает ее.

Канонические взгляды на фагоцитоз были обусловлены эффективностью захвата и внутриклеточного инактивирования микробного агента бактерицидными системами фагоцитов с последующей утилизацией поглощенных микробов, убитых бактерицидными факторами, с помощью гидролитических ферментов. Известно, что бактерицидное действие фагоцитирующих клеток определяется системами ферментной и неферментной природы, активность которых может быть обусловлена зависимыми и независимыми от кислорода механизмами [4]. К кислородозависимым факторам, кроме вышеназванной МПО, принадлежат кислородные радикалы – синглетный кислород (1O_2), супероксидный анион (O_2^-), гидроксильный радикал ($OH^\cdot$), пероксид водорода (H_2O_2), галогены. К кислороднезависимым системам бактерицидности, кроме КБ, относятся лизоцим, трансферрин, лактоферрин, молочная кислота.

В наших экспериментах главным кислородозависимым фактором бактерицидности ПМЯЛ явилась МПО. В основе механизма бактерицидного действия МПО лежит процесс галогенизации белков бактерий, который осуществляется только в присутствии пероксида водорода, образующегося в результате окисления глюкозо-6-фосфата гексозомонофосфатным путем, и галогенов, например йода, содержащегося в плазме крови. Нами установлена также важная роль КБ в противочумной защите у белых мышей, которые, адсорбируясь на поверхности бактерий, вступают в электростатическое взаимодействие с анионными компонентами, что приводит к нарушению структуры и функции мембран и гибели бактериальной клетки.

В свое время была установлена зависимость между содержанием КБ и активностью МПО в ПМЯЛ периферической крови и силой естественного иммунитета к чуме у разных видов животных из Центрально-Кавказского природного очага чумы [7,

8]. Установлено также, что в процессе иммуногенеза при чуме происходит перестройка кислородзависимого метаболизма фагоцитов, исследованная в тесте восстановления нитросинего тетразолия [9].

Другими словами, устойчивость к чуме у белых мышей коррелирует с защитной функцией ПМЯЛ, обеспечиваемой главным образом МПО-системой, при вспомогательном участии КБ-системы, показатели которых могут служить оценкой эффективности иммунизации животных против чумы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Будыка Д.А. Изучение иммуногенности противочумных профилактических препаратов в феномене «переживания». – Пробл. особо опасных инф. 2001; 81:128–33.
2. Вихоть Н.Е., Пастер Е.У. Бактерицидная активность фагоцитирующих клеток. В кн.: Иммунология: Практикум. Киев; 1989. С. 275–80.
3. Лецкий В.Б. редактор. Цитознимохимические исследования лейкоцитов. Возрастные колебания цитохимических показателей. Метод. рекомендации. 1973. 32 с.
4. Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., Вихоть Н.Е. Иммунология: практикум. Киев: Выща школа; 1989. 304 с.
5. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.; 1978. 128 с.
6. Промышленный регламент № 01897080-01-04 на производство Вакцины чумной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций. Ставрополь; 2004. 215 с.
7. Руднев С.М., Локтев Н.А. К вопросу о механизме естественной резистентности к чуме полуденных песчанок и горных сусликов Центрального Кавказа. В кн.: Организация эпиднадзора при чуме и меры ее профилактики: Матер. межгос. науч.-практ. конф. Алма-Ата; 1992. Т. 1. С. 142–4.
8. Руднев С.М., Локтев Н.А., Дальвадяц В.Г. Определение уровня естественного иммунитета по состоянию бактерицидных систем полиморфно-ядерных лейкоцитов. В кн.: Иммунология

и специфическая профилактика ООИ: Матер. Российской науч. конф.; 21–23 сентября 1993 г.; Саратов. Саратов; 1993. С. 81–3.

9. Руководство по профилактике чумы. Саратов; 1992. 279 с.

Об авторах:

Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Руднев С.М., Иванова Г.Ф., Фисун А.А., Гостичева С.Е., Бондаренко А.И. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. Тел./факс: (865-2) 26-11-21; 26-20-50. E-mail: admnip@mail.stv.ru

D.A.Budyka, N.V.Abzaeva, S.M.Rudnev, G.F.Ivanova, A.A.Fissun,
S.E.Gostischeva, A.I.Bondarenko

Bactericidal Activity of Polymorphonuclear Blood Leucocytes of White Mice Vaccinated Against Plague and in Different Schemes of Introduction of Plague Infection

Stavropol Anti-Plague Research Institute

Investigated was dynamics of germicidal activity factors (cationic proteins and myeloperoxidase) in polymorphonuclear leucocytes (PMNL) of peripheral blood of white mice immunized against plague and in the course of plague infection in different modifications of infectious process. Plague resistance in white mice was shown to correlate with PMNL protective function, the latter being provided mainly by myeloperoxidase system supported by cationic proteins system. The alteration of activity level of myeloperoxidase and cationic proteins in PMNL may be considered as indirect index of white mice plague resistance.

Key words: polymorphonuclear leucocytes, myeloperoxidase, cationic protein, immunogenicity, phenomenon of “survival”.

Authors:

Budyka D.A., Abzaeva N.V., Rudnev S.M., Ivanova G.F., Fissun A.A., Gostischeva S.E., Bondarenko A.I. Stavropol Anti-Plague Research Institute. 355035, Stavropol, Sovetskaya St., 13–15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Поступила 09.02.09.

С.П.Ярков¹, С.И.Третьяков¹, Л.А.Башарова¹, А.Н.Бровкина¹, В.Н.Злобин¹,
И.С.Тартаковский²

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА ИММУНОХРОМАТОГРАФИЕЙ С ВИЗУАЛЬНОЙ И ВИДЕОЦИФРОВОЙ ДЕТЕКЦИЕЙ

¹ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения»,
²ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» им. Н.Ф.Гамалеи, Москва

Разработаны индикаторные иммунохроматографические элементы для выявления возбудителя легионеллеза в водных средах. Индикаторные элементы позволяют выявлять не менее $1 \cdot 10^5 - 2,5 \cdot 10^5$ м.к./мл возбудителей легионеллеза первой серогруппы, что может иметь прикладное значение при идентификации выделенных культур легионелл и мониторинге объектов окружающей среды на наличие *Legionella pneumophila*.

Ключевые слова: иммунохроматография, индикация, *Legionella pneumophila*.

Legionella pneumophila – грамтрицательная бактерия, возбудитель острых тяжелых пневмоний с высоким процентом летальных исходов (5–10 %) и респираторных заболеваний. В природных условиях легионеллы являются естественными обитателями пресноводных водоемов. Присутствие *L. pneumophila* в воде различных объектов окружающей среды (бассейнов, аквапарков, градирен электростанций, системах кондиционирования воздуха и коммунальных водоснабжения в период сезонных профилактических работ) в концентрации $1 \cdot 10^4$ м.к./л и выше является колонизацией данного объекта легионеллами и представляет эпидемическую опасность, требующую дезинфекционных и профилактических мероприятий. Проведение мониторинга объектов окружающей среды на наличие *L. pneumophila* позволит определить степень их контаминации возбудителем и дать оценку эффективности принимаемых мер в целях профилактики болезни легионеров и обеспечения безопасности здоровья населения [2].

L. pneumophila занимает особую нишу среди возбудителей атипичных пневмоний как «агент техногенной инфекции», в настоящее время увеличивается число выявляемых случаев и эпидемических вспышек, что определяет актуальность совершенствования методов диагностики и индикации этого возбудителя [3]. Известно около 50 видов легионелл, из которых собственно болезнь легионеров вызывает вид *L. pneumophila*, насчитывающий 16 серогрупп. Причем более 80 % случаев заболевания вызывают штаммы 1 серогруппы. Существующие микробиологические методы диагностики обладают высокой стоимостью и длительны в исполнении (7–10 сут). Для быстрой идентификации бактерий используют латекс-агглютинацию, реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА), метод флуоресцирующих антител (МФА), либо полимеразную цепную реакцию (ПЦР). В настоящее время все большее внимание уделяется иммунохроматографическим методам, которые отве-

чают критериям экспресс-анализа и получили широкое распространение в мире [1, 4, 6]. В нашей стране иммунохроматографические средства выявления возбудителей болезни легионеров до недавнего времени отсутствовали. Ранее нами были опубликованы предварительные данные по разработке колориметрического иммунохроматографического анализа для выявления возбудителя легионеллеза с помощью индикаторных иммунохроматографических элементов (ИИХЭ) на основе коллоидного золота [5].

Целью настоящей работы явилось исследование возможности использования иммунохроматографического анализа с визуальной и видеоцифровой детекцией для выявления возбудителя легионеллеза в водных средах.

Материалы и методы

Использовали ИИХЭ для выявления возбудителя болезни легионеров первой серогруппы, разработанные авторами во ФГУП «ГосНИИ БП» Федерального медико-биологического агентства. Общий принцип построения индикаторных иммунохроматографических элементов описан в [1]. В ИИХЭ для выявления легионелл использовал принцип «сэндвич-анализа». Для формирования аналитической зоны иммунохроматографической мембраны и получения конъюгатов с коллоидным золотом применяли моноклональные мышинные антитела 2F10, 5F4 к полисахаридным (липополисахаридным антигенам) легионелл первой серогруппы, производства ООО «Импакт» (Москва). В контрольной зоне аналитической мембраны ИИХЭ использовали кроличьи антимышинные иммуноглобулины (Sigma). Полученную аналитическую мембрану компоновали в мультимембранный композит, содержащий подложки для впитывания образца, для нанесения образца, для нанесения конъюгата коллоидного золота с моноклональными антителами. Затем, мультимембранный композит резали на по-

лоски размером 5×60 мм и помещали в пластиковые оправы, снабженные отверстиями для нанесения образца и для наблюдения окрашенных зон на нироцеллюлозной мембране.

В качестве модельных систем в работе использовали легионеллы из коллекции микробных культур национальной референс-лаборатории по легионеллезу ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН: *L. pneumophila* Sg1-Philadelphia-1, *L. pneumophila* Sg1-Pyshma-1, *L. pneumophila* Sg1-Bellingham-1, *L. pneumophila* Sg1-Flint-1, *L. pneumophila* Sg1-Pyshma-2, *L. pneumophila* Sg6-Chicago-2, *L. pneumophila* Sg8-Concord-3, *L. anisa* WA-316-C3, *L. longbeachae* Sg1-Long Beach-4, *L. gratiana* Pyshma-7.

Готовили бактериальную суспензию клеток легионелл в концентрации, соответствующей 10 единицам стандартного образца мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ОСО 42-28-59-86П), что эквивалентно $1,0 \cdot 10^9$ м.к./мл рода *Legionella*. Приготовленную микробную взвесь инактивировали прогреванием на водяной бане при 80°C в течение 30 мин.

Для определения специфической активности (чувствительности) ИИХЭ готовили разведения соответствующих клеток в буфере анализа (БА) в диапазоне концентраций $2,5 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^7$ м.к./мл. В ИИХЭ пластиковой пипеткой вносили по каплям приготовленные суспензии легионелл, всего четыре капли (около 120 мкл) с интервалами 30–45 с. В качестве отрицательного контроля использовали БА без добавления биологического материала. Результаты регистрировали спустя 25 мин после внесения первой капли.

Для изучения специфичности ИИХЭ использовали образцы, содержащие культуры клеток легионелл *L. pneumophila* других серогрупп *L. pneumophila* Sg6-Chicago-2, *L. pneumophila* Sg8-Concord-3, другие виды легионелл *L. anisa* WA-316-C3, *L. longbeachae* Sg1-Long Beach-4, *L. gratiana* Pyshma-7, а также псевдомонады, стафилококки и клебсиеллы, входящие в состав биопленок, в которых живут *Legionella*. Культуры клеток использовали в концентрации

$1 \cdot 10^7$ м.к./мл. Исследование проводили таким же образом, как и при изучении чувствительности.

Регистрацию аналитического эффекта ИИХЭ проводили как визуально, так и с помощью компьютерной программы «Видеотест» и отечественного видеоцифрового регистратора иммунохроматограмм «Рефлеком», внесенного в государственный реестр средств измерений России [4]. Прибор регистрировал величину окрашивания конъюгатом аналитической и контрольной зон ИИХЭ в относительных единицах и позволял документировать результаты анализа в виде электронных файлов или бумажных распечаток.

Положительным результатом, после нанесения образца, считали появление в аналитической зоне ИИХЭ различимой глазом окрашенной полосы красного цвета, что соответствовало показаниям прибора «Рефлеком» не менее $(0,9 \pm 0,2)$ отн.ед. и появление окрашенной полосы в контрольной зоне. При нанесении отрицательного контроля, или гетерологичных микроорганизмов, на поверхности аналитической мембраны ИИХЭ появлялась одна окрашенная полоса в контрольной зоне. При этом интенсивность окрашивания, измеренная прибором, контрольной зоны была $2,0 - 3,6$ отн. ед., а интенсивность окрашивания аналитической зоны не превышала $0,1 \pm 0,1$ отн. ед. Измерения для каждой концентрации микробных клеток и отрицательных контролей проводили пятикратно, вычисляли среднее арифметическое показаний прибора. Среднеквадратическое отклонение при 95 % доверительной вероятности не превышало 0,2 отн. ед.

Результаты и обсуждение

Специфическая активность (чувствительность) и специфичность по отношению к легионеллам других серогрупп, для разработанных ИИХЭ, приведены в табл. 1 и 2. Для удобства нами была предложена шкала оценки интенсивности окраски аналитической и контрольной зон ИИХЭ при визуальном наблюдении оператором:

отрицательный результат анализа (-), в образ-

Таблица 1

Чувствительность ИИХЭ для выявления возбудителя болезни легионеров 1-й серогруппы на легионеллах первой серогруппы

Наименование культуры легионелл	Концентрация клеток, м.к./мл							
	0	$2,5 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$
<i>L. pneumophila</i> Sg1-Philadelphia-1	- (0/2,5)	- (0,3/2,1)	- (0,4/2,4)	+	++	+++	+++	+++
<i>L. pneumophila</i> Sg1-Pyshma-1	- (0/2,0)	- (0,4/2,5)	- (0,6/2,5)	+	++	++	+++	+++
<i>L. pneumophila</i> Sg1-Bellingham-1	- (0/2,3)	- (0,3/2,5)	- (0,6/2,3)	+	+	++	+++	+++
<i>L. pneumophila</i> Sg1-Flint-1	- (0/2,5)	- (0,4/2,3)	- (0,5/2,1)	-	+	++	+++	+++
<i>L. pneumophila</i> Sg1-Pyshma-2	- (0/3,0)	- (0/1,9)	- (0/2,3)	-	+	++	+++	+++

Здесь и в табл. 2. В верхней строке ячеек таблицы приведены данные визуальной оценки концентрации оператором, в скобках дана интенсивность окрашивания «аналитической зона/контрольная зона», измеренная прибором «Рефлеком», в отн. ед.; «н.д.» – нет данных.

Таблица 2

Перекрестные реакции ИИХЭ для выявления возбудителя болезни легионеров 1-й серогруппы с разными видами легионелл

Наименование культуры легионелл	Концентрация клеток, м.к./мл.							
	0	2,5·10 ⁴	5·10 ⁴	1·10 ⁵	2,5·10 ⁵	5·10 ⁵	1·10 ⁶	1·10 ⁷
<i>L. pneumophila</i> , другие серогруппы								
<i>L. pneumophila</i> Sg6-Chicago-2	- (0/3,0)	н.д.	н.д.	- (0/2,4)	- (0/2,5)	- (0/1,8)	- (0/3,6)	- (0/2,4)
<i>L. pneumophila</i> Sg8-Concord-3	- (0/2,0)	н.д.	н.д.	- (0/2,6)	- (0,1/2,1)	- (0/2,2)	- (0/3,5)	- (0,1/2,1)
Легионеллы других видов, псевдомонады, стафилококки и клебсиеллы								
<i>L. anisa</i> WA-316-C3	- (0/2,4)	н.д.	н.д.	- (0/1,8)	- (0/2,4)	- (0/2,2)	- (0/2,6)	- (0/2,4)
<i>L. longbeachae</i> Sg1-Long Beach-4	- (0/2,7)	н.д.	н.д.	- (0/2,3)	- (0/2,2)	- (0/2,4)	- (0/3,0)	- (0/2,6)
<i>L. gratiana</i> Pyshma-7	- (0/3,1)	н.д.	н.д.	- (0/2,5)	- (0/2,0)	- (0/2,7)	- (0/2,0)	- (0/3,1)
<i>Klebsiella</i> spp.	- (0/1,9)	н.д.	н.д.	- (0/1,9)	- (0/2,3)	- (0/2,0)	- (0/2,5)	- (0/2,3)
<i>St. aureus</i>	- (0/2,2)	н.д.	н.д.	- (0/2,3)	- (0/2,2)	- (0/2,3)	- (0/3,1)	- (0/2,5)
<i>Ps. aeruginosa</i>	- (0/2,0)	н.д.	н.д.	- (0/2,5)	- (0/2,0)	- (0/2,8)	- (0/2,1)	- (0/3,0)

це отсутствуют или находятся в концентрации ниже порога чувствительности клетки *L. pneumophila* Sg1 – отсутствие окрашенной линии в аналитической зоне;

положительный результат анализа (+), в образце присутствуют клетки *L. pneumophila* Sg1 – слегка заметная окрашенная линия в аналитической зоне, (++) – хорошо заметная окрашенная линия в аналитической зоне, (+++) – интенсивная окрашенная линия в аналитической зоне. Визуальная оценка результатов иммунохроматографического анализа, в целом, коррелировала с показаниями прибора «Рефлеком», и как видно из табл. 1, градация визуальной шкалы (+) соответствовала 1·10⁵ м.к./мл и 2,5·10⁵ м.к./мл для различных штаммов *L. pneumophila* первой серогруппы. Применение видеоцифрового метода анализа не увеличило в данном случае чувствительности обнаружения легионелл, по сравнению с визуальным наблюдением результата оператором. Однако, по нашему мнению, видеоцифровой метод позволяет уменьшить такие факторы субъективности при оценке результата человеком, как освещенность рабочего места, усталость оператора или индивидуальные особенности восприятия цветов и насыщенности линий иммунохроматограммы

По чувствительности иммунохроматографический метод анализа не уступает иммуносуспензионным методам и МФА, но значительно выигрывает по времени анализа (в несколько раз быстрее), простоте и технологичности постановки анализа. Индикационный эффект наблюдался для легионелл первой серогруппы при наличии в пробе объемом 120 мкл, наносимой на индикаторный элемент, 12–30 тыс. м.к.

Помимо высокой чувствительности, сравнимой с чувствительностью РНГА и МФА, ИИХЭ для вы-

явления возбудителей болезни легионеров первой серогруппы обладали высокой специфичностью по отношению к легионеллам других серогрупп, а также по отношению к гетерологичным микроорганизмам (*Klebsiella* spp., *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*), взятым в концентрации 1·10⁷ м.к./мл (табл. 2), т.е. в стократном избытке по сравнению с минимально выявляемой концентрацией легионелл первой серогруппы.

При анализе водных проб, взятых из водоемов, необходимо предварительное физическое концентрирование и микробиологическое культивирование [2], т.к. исходная концентрация легионелл находится ниже предела чувствительности иммунохимических методов при проведении анализа без пробоподготовки. Однако высокая специфичность, простота процедуры и малое время (20–25 мин) собственно иммунохроматографического анализа являются определенным преимуществом при санитарно-гигиенических анализах воды.

Короткое время анализа, отсутствие дополнительных технологических операций (промывка, инкубация, дозированное внесение реагентов) визуальная и приборная регистрация позволяют рассматривать иммунохроматографический анализ возбудителя легионеллеза как перспективный метод для внелабораторной индикации и идентификации этого патогена, при мониторинге объектов окружающей среды на наличие патогенных штаммов *L. pneumophila*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бызова Н.А., Ярков С.П., Злобин В.Н. и др. Разработка иммунохроматографического экспресс-теста для выявления микробиоциноза. Физиология и патология иммунной системы. 2005; 8:41–5.
2. Онущенко Г.Г. Методические указания по выявлению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды. МУК 4.2. 2217-07. М.; 2007.

3. Тартаковский И.С. Возбудители атипичных пневмоний: роль в этиологической структуре пневмоний и особенности лабораторной диагностики. Клини. микробиол. и антимикробная химиотерапия. 2003; 5:9–17.

4. Ярков С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А., Злобин В.Н. Индикация возбудителей особо опасных заболеваний с помощью иммунохроматографии и видеоцифрового анализа. Вестник РАМН. 2007; 12:22–6.

5. Ярков С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А., Тартаковский И.С., Карпова Т.И., Дронина Ю.Е. Разработка технических средств иммунохроматографического анализа для выявления возбудителя легионеллеза. Матер. IX Межгос. науч.-практ. конф. Волгоград; 2008. С. 160–1.

6. King D.V., Luna V., Cannons A., Cattani J., Amoso P. Performance assessment of three commercial assays for direct detection of *Bacillus anthracis* spores. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 3454–5.

Об авторах:

Ярков С.П., Третьяков С.И., Башарова Л.А., Бровкина А.Н., Злобин В.Н. Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения. 125424, Москва, Волоколамское шоссе, 75, к. 1. Тел./факс: 491-73-72. E-mail: niibp@dol.ru

Тартаковский И.С. Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи. 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18. E-mail: info@riem.ru

S.P.Yarkov, S.I.Tret'yakov, L.A.Basharova, A.N.Brovkina, V.N.Zlobin, I.S.Tartakovskiy

Legionellosis Agent Indication Using Immunochromatography with Visual and Digital Video Detection

State Research Institute of Biological Instrumentation, Moscow;
N.F.Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
Moscow

Proposed was the immunochromatographic express-test for legionellosis agent detection in water environment. The method is high-sensitive and specific allowing to detect only first serogroup of legionellosis agent. That is of high importance for identification of isolated cultures of legionella and monitoring of *Legionella pneumophila* presence in environment objects.

Key words: immunochromatography, indication, *Legionella pneumophila*.

Authors:

Yarkov S.P., Tret'yakov S.I., Basharova L.A., Brovkina A.N., Zlobin V.N. State Research Institute of Biological Instrumentation. 125424, Moscow, Volokolamskoe Shosse, 75, B. 1. E-mail: niibp@dol.ru

Tartakovskiy I.S. N.F.Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 123098, Moscow, Gamaleya St., 18. E-mail: info@riem.ru

Поступила 24.04.09.

С.В.Генералов, Е.Г.Абрамова, А.К.Никифоров, Л.В.Савицкая, М.В.Галкина, Л.Н.Минаева, Т.А.Михеева, А.Г.Селезнёва, И.М.Жулидов, Р.А.Свинцов, Г.П.Лазаренко, Ю.В.Брандзишевский

ИЗУЧЕНИЕ АНАФИЛАКТОГЕННЫХ СВОЙСТВ $F(ab')_2$ -ФРАГМЕНТОВ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО АНТИРАБИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА

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

В тесте *in vivo* проведено сравнительное изучение анафилактогенных свойств гетерологичного антирабического иммуноглобулина и полученных на его основе $F(ab')_2$ -фрагментов. Показано отсутствие анафилактогенных свойств $F(ab')_2$ -фрагментов гетерологичного антирабического иммуноглобулина.

Ключевые слова: бешенство, антирабический иммуноглобулин, $F(ab')_2$ -фрагменты, реактогенность, анафилаксия.

Неблагополучная эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация по бешенству в Российской Федерации, особенно обострившаяся в последнее десятилетие, способствует увеличению числа лиц, ежегодно обращающихся за антирабической помощью (около 450 тыс. чел.) [9].

В России для постэкспозиционной профилактики гидрофобии используют вакцины КоКАВ, КАВ и антирабический иммуноглобулин, полученный из лошадиной или человеческой сыворотки. Несмотря на высокую степень очистки препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина, у 1–2 % пациентов при его введении могут возникнуть побочные аллергические реакции в виде сывороточной болезни и анафилактического шока [14]. Анафилактический шок имеет место в результате взаимодействия между фиксированными на клетке IgE и специфическим антигеном с последующим высвобождением медиаторов из клеток-мишеней: базофильных лейкоцитов или тучных клеток. Сывороточная болезнь – это аллергическая реакция, связанная с образованием иммунных комплексов в крови или тканях и активацией комплемента. При использовании гомологичного иммуноглобулина таких осложнений не возникает, однако, его себестоимость существенно выше таковой гетерологичного иммуноглобулина.

В РосНИПЧИ «Микроб» разработана биотехнологическая схема получения антирабического препарата на основе бивалентных $F(ab')_2$ -фрагментов антител путем ферментативного расщепления белков γ -глобулиновой фракции иммунной сыворотки [7, 8]. При этом представляется вероятным, что полученные таким образом $F(ab')_2$ -фрагменты менее реактогенны, чем нерасщепленный антирабический иммуноглобулин, из которого они были выделены [13].

Единого метода, с помощью которого можно зарегистрировать аллергизирующее действие фармакологических средств, не существует [4]. Аллергодиагностика включает в себя набор реакций *in vivo* и *in vitro*, которые позволяют выявлять разные

типы гиперчувствительности. В работах Т.А.Меняцовой ранее была изучена сенсibilизирующая активность антирабического иммуноглобулина и его фракций *in vitro* в тестах непрямого дегрануляции тучных клеток и реакции повреждения нейтрофилов в крови [5, 6]. Аллергизирующие свойства препаратов антирабического иммуноглобулина и сыворотки, очищенной методом ферментализации, были также ранее изучены исследователями Томского НИИВС в тестах *in vivo* и *in vitro* [11, 12].

Целью настоящего исследования явилось изучение в тесте *in vivo* анафилактогенных свойств препарата $F(ab')_2$ -фрагментов гетерологичного антирабического иммуноглобулина, полученного методом ферментативного гидролиза с последующей хроматографической очисткой в сравнении с коммерческим антирабическим иммуноглобулином.

Материалы и методы

Анафилактогенные свойства $F(ab')_2$ -фрагментов гетерологичного антирабического иммуноглобулина изучали в реакции активной анафилаксии в соответствии с рекомендациями Л.А.Степановой [11, 12]. В качестве биологических моделей использовали морских свинок массой 300–350 г (всего 21 животное). Животных однократно сенсibilизировали подкожным введением испытуемых препаратов в количестве 0,5 мл, содержащих 0,1 мг белка. На 21-й день свинкам внутрисердечно вводили разрешающие дозы соответствующих препаратов, содержащих 10, 40 и 80 мг белка. Животным контрольной группы по идентичной методике вместо анафилактогенов вводили 0,9 % раствор натрия хлорида. Объем разрешающей дозы составлял 1 мл. Каждая доза была исследована на 3 животных. Выбор схемы сенсibilизации также обусловлен рекомендациями санитарных правил СП 3.3.2.561-96 и методических указаний по оценке аллергизирующих свойств фармакологических веществ [1, 4].

Учет результатов проводили по соотношению числа погибших животных к числу взятых в опыт и по тяжести реакции. Силу анафилактической реакции оценивали по 4-балльной схеме [10].

Анафилактический индекс определяли по формуле W.Weigle [11]:

$$K = \frac{(4a + 3b + 2c + 1d + 0e)}{(a + b + c + d + e)},$$

где 4, 3, 2, 1, 0 – оценка шока в баллах; a, b, c, d, e – количество животных, у которых имел место шок соответствующей тяжести.

Для статистической обработки результатов исследования использовали ранговый X-критерий Вандер-Вардена [3].

Результаты и обсуждение

Реактогенность иммунных препаратов представляет собой сложный многокомпонентный показатель, главной составляющей которого являются анафилатогенные свойства.

Результаты по изучению активной анафилаксии представлены в таблице. Животным первой группы вводили антирабический гетерологичный иммуноглобулин, получаемый риванол-спиртовым способом. При введении разрешающей дозы 10 мг белка, лишь у одной свинки наблюдалась анафилактическая реакция. При этом имели место следующие признаки анафилаксии: общее беспокойство, взъерошивание шерсти на затылке, зуд, кратковременные судороги. Примерно через 30 мин животное пришло в нормальное состояние. У остальных животных данной группы проявления признаков анафилаксии не наблюдалось. Анафилактический индекс в данной группе составил 1,0.

При внутрисердечном введении 40 мг иммуноглобулина также у одной свинки имел место более сильный анафилактический шок, чем в предыдущей группе. Анафилактическое состояние развивалось быстро, свинка падала на бок, наблюдались сильные

судороги, животное пало через несколько минут после введения разрешающей дозы. У остальных животных исследуемой группы признаков анафилаксии не наблюдалось. Дальнейшее увеличение концентрации белка в разрешающей дозе не вызывало сильных проявлений анафилаксии. В группе животных, которым было введено внутрисердечно 80 мг иммуноглобулина, у двух свинок наблюдались только слабые признаки анафилаксии. Значение анафилактического индекса составило 0,6.

Среди животных, которым в качестве сенситизирующего и разрешающего препарата вводили $F(ab')_2$ -фрагменты антирабического иммуноглобулина, не было выявлено ни одного животного с проявлениями анафилаксии. Анафилактический индекс не зависел от концентрации белка в разрешающих дозах и был равен нулю. Различие анафилатогенных свойств гетерологичного антирабического иммуноглобулина и его $F(ab')_2$ -фрагментов статистически достоверно ($p < 0,05$; $X = 4,5$).

Реакция животных контрольной группы на введение 0,9 % раствора натрия хлорида также отсутствовала.

Наблюдаемое отсутствие анафилатогенных свойств препарата $F(ab')_2$ -фрагментов антирабического иммуноглобулина может быть связано с меньшим молекулярным весом и особенностями антигенной структуры молекулы. Известно, что детерминанты С-концевой половины тяжелой цепи, основную часть которой составляет Fc-фрагмент, реагируют с комплементарными антителами, образующимися при сенситизации соответствующими иммуноглобулинами [2]. Возможно, вследствие отсутствия соответствующих детерминант, $F(ab')_2$ -фрагменты вызывают при сенситизации организма меньшую продукцию комплементарных антител, что, в свою очередь, обуславливает отсутствие анафилатогенных реакций при повторном введении.

Таким образом, результаты проведенного тестирования свидетельствуют об отсутствии анафилатогенных свойств препарата $F(ab')_2$ -фрагментов гетерологичного антирабического иммуноглобули-

Результаты исследования анафилатогенных свойств препарата $F(ab')_2$ -фрагментов антирабического иммуноглобулина

Группа	Сенсибилизация		Разрешающее введение препаратов								
			Исследуемый препарат	Доза белка, мг	Результаты						по выживаемости
	по тяжести реакции										
	4	3			2	1	0	К			
1	Антирабический иммуноглобулин	0,1	Антирабический иммуноглобулин	10	0	1	0	0	2	1	0/3
				40	1	0	0	0	2	1,3	1/3
				80	0	0	0	2	1	0,6	0/3
2	F(ab') ₂ -фрагменты антирабического иммуноглобулина	0,1	F(ab') ₂ -фрагменты антирабического иммуноглобулина	10	0	0	0	0	3	0	0/3
				40	0	0	0	0	3	0	0/3
				80	0	0	0	0	3	0	0/3
3	0,9 % раствор натрия хлорида	0,0	0,9 % раствор натрия хлорида	0,0	0	0	0	0	3	0	0/3

на, что указывает на перспективность его применения в качестве средства для лечебной профилактики гидрофобии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов: Санитарные правила (СП 3.3.2.561-96). М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1998. 127 с.
2. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология. М.: Высшая школа; 1985. 287 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа; 1990. С. 128–30.
4. Любимов Б.И., Коваленко Л.П., Федосеева В.Н. и др. Методические указания по оценке алергизирующих свойств фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Хабриев Р.У., редактор. М.: Медицина; 2005. С. 54–9.
5. Меняйцева Т.А. Экспериментальная модель оценки сенсibilизирующей активности антирабического иммуноглобулина. В кн.: Биологические препараты и иммунологическая реактивность организма. Томск; 1981. С. 71–72.
6. Меняйцева Т.А., Васильева О.А., Пилявская Е.А. Изучение in vitro сенсibilизирующей активности антирабического иммуноглобулина и его фракций. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1979; 7:51–4.
7. Никифоров А.К., Генералов С.В., Волох О.А., Лобовикова О.А., Абрамова Е.Г., Киреев М.Н. Применение нативного и иммобилизованного пепсина для получения F(ab')₂-фрагментов антирабического иммуноглобулина. Биопрепараты. 2007; 2:20–1.
8. Никифоров А.К., Дятлов И.А., Волох О.А., Лобовикова О.А., Киреев М.Н. Получение и анализ основных свойств препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина, состоящего из F(ab')₂-фрагментов. Пробл. особо опасных инф. 2007; 2(94):75–8.
9. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2006 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2007. 360 с.
10. Руководство по иммунологии. Вязов О.Е., Ходжаев Ш.Х., редакторы. М.: Медицина; 1973. 387 с.
11. Степанова Л.А., Меняйцева Т.А. Изучение анафилактических свойств ферментированного антирабического иммуноглобулина методами in vivo и in vitro. Вирусные и бактериальные препараты. Томск; 1983; 31:85–9.

12. Степанова Л.А., Музафарова Н.Х. Сравнительная оценка некоторых свойств антирабического иммуноглобулина и сыворотки, очищенной методом ферментализации. Вирусные и бактериальные препараты. Томск; 1981; 30:93–9.

13. Sedlacek H.H., Gronski P., Hofstaetter T. et al. The biological properties of immunoglobulin G and its split products [F(ab')₂ and Fab]. Klin. Wochenschr. 1983; 61:723–36.

14. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. Geneva; 2004. 121 p.

Об авторах:

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Савицкая Л.В., Галкина М.В., Минаева Л.Н., Михеева Т.А., Селезнева А.Г., Жулидов И.М., Свинцов Р.А., Лазаренко Г.П., Брандзишевский Ю.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

S.V.Generalov, E.G.Abramova, A.K.Nikiforov, L.V.Savitskaya, M.V.Galkina, L.N.Minaeva, T.A.Mikheeva, A.G.Selezneva, I.M.Zhulidov, R.A.Svintsov, G.P.Lazarenko, Yu.V.Brandishevsiy

Study of Anaphylactogenic Properties of F(ab')₂-Fragments of Heterologous Anti-Rabies Immunoglobulin

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Anaphylactogenic properties of heterologous anti-rabies immunoglobulin and its F(ab')₂-fragments were tested in vivo. It was shown that F(ab')₂-fragments of heterologous anti-rabies immunoglobulin did not possess anaphylactogenic properties.

Key words: rabies, anti-rabies immunoglobulin, F(ab')₂-fragments, reactivity, anaphylaxis.

Authors:

Generalov S.V., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Savitskaya L.V., Galkina M.V., Minaeva L.N., Mikheeva T.A., Selezneva A.G., Zhulidov I.M., Svintsov R.A., Lazarenko G.P., Brandishevsiy Yu.V. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 31.10.08.

Т.Л.Захарова, С.П.Заднова, Л.Ф.Ливанова, М.Н.Киреев, Н.И.Смирнова

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ОЧИЩЕННЫХ ОСНОВНЫХ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

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

Предложен способ выделения и очистки одновременно трех ключевых факторов патогенности холерного вибриона (холерного токсина, токсин-корегулируемых пилей адгезии, O1-антигена Инаба или Огава), являющихся и основными протективными антигенами, из сконструированных ранее рекомбинантных штаммов *Vibrio cholerae* 2415 серовара Инаба и КМ 206 серовара Огава. Иммунологическая активность препаратов подтверждена поликлональными высокоактивными специфическими антисыворотками, полученными на их основе. Очищенные антигены могут быть использованы для создания и усовершенствования профилактических и диагностических препаратов.

Ключевые слова: рекомбинантные штаммы *Vibrio cholerae*, протективные антигены, очистка, антисыворотки, специфичность.

Проблема борьбы с холерой – опасной эпидемической болезнью, причиной смертности людей во многих странах, не перестает быть актуальной. В последнее время эпидемическая обстановка по холере во всем мире усложнилась за счет формирования новых эндемичных очагов в Азии и Африке [4]. В связи с этим, а также с усиленной миграцией населения возрастает возможность проникновения возбудителя этой особо опасной инфекции в Россию. Очевидна необходимость создания более эффективных средств и методов диагностики и профилактики холеры.

В процессе эволюции возбудителя холеры в пределах вида образовалось три эпидемически опасных варианта с разным сочетанием генов патогенности и иммуногенности: холерные вибрионы O1-серогруппы классического биовара сероваров Огава и Инаба, вызвавшие первые шесть пандемий азиатской холеры (с 1817 по 1923 год); холерные вибрионы O1-серогруппы биовара эльтор сероваров Инаба и Огава – возбудителя текущей 7-й пандемии (с 1961 г. по настоящее время) и внезапно появившиеся в 1992 г. высоковирулентные штаммы *Vibrio cholerae* O139 серогруппы [8]. В системе эпидемиологического надзора за холерой важнейшее значение имеет не только своевременное выделение штаммов холерного вибриона, но и оценка их эпидемической значимости, основанная на определении продукции основных факторов патогенности.

К наиболее значимым факторам патогенности холерного вибриона, являющимся и важными протективными антигенами, относятся холерный токсин (ХТ), вызывающий развитие диареи (основного клинического симптома при холере); токсин-корегулируемые пили адгезии (ТКПА) – основной фактор колонизации холерного вибриона; основной соматический антиген O1 (сероваров Инаба и Огава) и O139 серогрупп [8]. Данные антигены формируют соответственно анитоксический, антиколонизирующий и антибактериальный иммунитет при холере.

В ранее проведенных исследованиях сконструиро-

ваны рекомбинантные штаммы *V. cholerae*, имеющие высокий уровень синтеза основных протективных антигенов – ХТ, ТКПА и O1-антигена [6, 12]. В результате введения в клетки природных токсигенных штаммов *V. cholerae* 569В Инаба и Дакка 35 Огава рекомбинантной плазмиды pCT105 с клонированными генами *ctxAB* продукция ХТ возросла более чем в четыре раза. Присутствие в клетках указанной плазмиды не только обусловило активный синтез ХТ, но и привело к повышению продукции ТКПА за счет увеличения экспрессии глобального регуляторного гена *toxR*. Полученные штаммы обладают также повышенным уровнем экспрессии гена *wbe*, кодирующего синтез O1-антигена. Эти свойства позволяют использовать их в качестве продуцентов всех трех указанных протективных антигенов одновременно. Наличие рекомбинантных штаммов O1-серогруппы сероваров Инаба и Огава дает возможность получать тот или иной серовар O1-антигена в зависимости от выращиваемого штамма.

Разработка эффективной технологии получения протективных антигенов в чистом виде является важнейшей задачей, так как очищенные антигены могут быть использованы для создания и усовершенствования профилактических и диагностических препаратов.

Цель данной работы – выделение и очистка трех основных протективных антигенов (ХТ, ТКПА и O1-антигена) из одного рекомбинантного штамма холерного вибриона при однократном выращивании.

Материалы и методы

В работе использованы следующие сконструированные ранее рекомбинантные штаммы *V. cholerae*: 2415, классический биовар, O1-серогруппа серовара Инаба, содержащий рекомбинантную плазмиду pCT105::mini-kan (Km^R, Tc^R) с клонированными структурными генами *ctxAB*, кодирующими ХТ [12]; КМ 206 (2416), классический биовар, O1-серогруппа

серовара Огава, полученный в результате элиминации плазмиды pCT105::mini-kan из плазмидного клона Дакка 35 (pCT105::mini-kan).

Штаммы имеют повышенную экспрессию резидентных генов *ctxAB*, *tcpA-F* и *wbe*, кодирующих соответственно ХТ, ТКПА и О1-антиген [6]. Штаммы депонированы в Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб».

Выращивание штаммов проводили в бульоне LB (рН 6,8) при температуре 30 °С методом глубинного культивирования с аэрацией в ферментере «New Brunswick» (США) в течение 10 ч.

Источником ХТ и О1-антигена служил обработанный формалином центрифугат жидкой культуры указанных штаммов. Для выделения ТКПА использовали бактериальную массу. Технология выделения ХТ состояла из осаждения белка с помощью модифицированной процедуры, описанной в [11], и последующей очистки методом ионообменной хроматографии на фосфоцеллюлозе [10].

Препараты О-антигена О1 серогруппы сероваров Инаба и Огава получали с помощью поэтапного выделения растворенного в культуральной среде антигена. Культуральную жидкость подвергали мембранной ультрафильтрации и проводили разделительную хроматографию на TSK-геле HW-60 (Toyo Soda MFG, Co LTD, Япония) [1].

Выделение белка пилей (ТКПА) проводили по разработанной ранее методике [2]. Содержание белка в пробах контролировали методом Лоури, количество полисахарида определяли с помощью тимолового реактива. Специфическую активность очищенных антигенов определяли в реакции иммунодиффузии в геле (РИД) [3]. Изучение белкового состава выделенных и очищенных протективных антигенов проводили, используя электрофорез в полиакриламидном геле [9].

Кроличьи антисыворотки к выделенным и очищенным препаратам протективных антигенов (ХТ, ТКПА, О1-антигену сероваров Инаба и Огава) получали с помощью модифицированных нами методов иммунизации [5, 7, 13]. Каждым препаратом иммунизировали группу из пяти кроликов породы шиншилла массой 2,5 кг. Антисыворотки к ХТ получали двукратной иммунизацией животных с интервалом в один месяц путем введения 200 мкг очищенного препарата. Антисыворотку к О1-антигену сероваров Инаба и Огава получали путем 3-кратной иммунизации кроликов с интервалами в 4 дня нарастающими дозами антигена (50, 100, 150 мкг). Через 7 дней проводилась повторная 3-кратная иммунизация большими дозами препарата (400–500 мкг) с интервалами в 1 день. Антисыворотку к ТКПА получали 4-кратной внутривенной иммунизацией возрастающими дозами антигена (100, 150, 200 и 250 мкг) с интервалом в 7 дней. Антигенную активность полученных сывороток определяли в РИД с соответствующими очищенными препаратами антигенов.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы были подобраны оптимальные условия культивирования, обеспечивающие эффективную продукцию штаммами *V. cholerae* KM 206 и 2415 всех трех основных протективных антигенов (ХТ, ТКПА, О1-антигена) в производственных условиях, что позволило получить достаточное количество бактериальной массы и супернатанта.

Штамм *V. cholerae* KM 206 (2416) использовали для выделения ХТ, ТКПА и О1 антигена серовара Огава. О1 антиген серовара Инаба получали из культуры штамма *V. cholerae* 2415, который также является продуцентом и ХТ, и ТКПА.

Получение очищенных антигенов начинали с выделения ХТ. Для этого белковые фракции из фильтрата бульонной культуры, предварительно обработанного формалином (0,25 %), осаждали в присутствии 0,25 % гексаметафосфата натрия при рН 4,0, перемешивая в течение 2 ч при комнатной температуре. Осадок собирали центрифугированием, растворяли и диализовали против 0,01 М фосфатного буфера, рН 7,0. Очистка препарата методом ионообменной хроматографии основана на способности ХТ связываться с фосфоцеллюлозой при рН 7,0. Для этого препарат наносили на предварительно подготовленную колонку с обработанной и уравновешенной тем же буфером фосфоцеллюлозой P11 (Whatman). Адсорбированный на колонке ХТ элюировали 0,2 М фосфатным буфером, рН 7,4. Профиль элюции имел два пика: пик 1 появлялся в уравнивающем 0,01 М буфере при рН 7,0, а пик 2 элюировался после изменения молярности и рН буфера. ХТ содержался во 2-м пике, что подтверждалось положительным результатом РИД с антитоксической сывороткой. Фракции 2-го пика объединяли и диализовали против 0,9 % раствора хлорида натрия с 0,02 % азида натрия в качестве консерванта. Выход очищенного токсина от общего количества белка в исходном препарате составил 12 %.

Специфическую активность полученного ХТ определяли в РИД с моноспецифической антитоксической сывороткой. Полученный токсин образовывал одну линию преципитата, титр реакции составлял 1:64 (3 мкг/мл). Чистоту и гомогенность препарата контролировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Результаты показали, что в очищенном нами препарате обнаруживались две белковые полосы, идентичные по расположению А- (27,2 кДа) и В-субъединице (58 кДа) коммерческого препарата ХТ (Sigma, США) (рис. 1).

Для получения препаратов О1-антигена Огава и О1-антигена Инаба применяли способ поэтапного выделения растворенного в культуральной среде антигена, позволяющий сохранить антиген на всех этапах очистки в нативном растворенном виде, избегая изменения его фазового состояния, которое происходит при общепринятых методах выделения

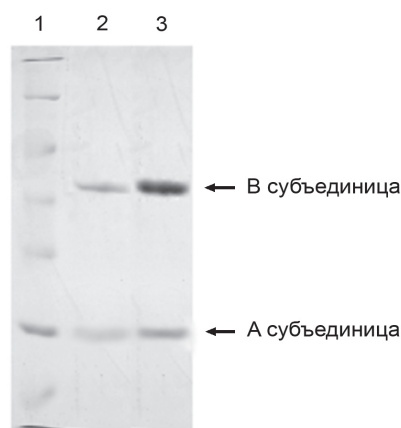


Рис. 1. Электрофореграмма очищенного препарата холерного токсина

1 – маркеры молекулярной массы (150, 100, 75, 50, 35, 25, 15 кДа);
2 – очищенный препарат холерного токсина; 3 – холерный токсин (фирма Sigma, США), содержащий В- субъединицу 58 кДа и А – 27,2 кДа

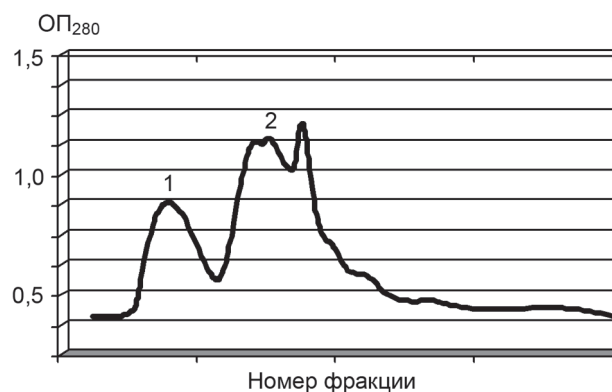


Рис. 2. Гель-фильтрация препарата О1 антигена из штамма *V. cholerae* KM 2415 на колонке TSK-геля HW-60. О1-антиген *V. cholerae* содержится в пике 1
По оси ординат – элюция препарата при λ 280 нм

О-антигена (например, при фракционировании сульфатом аммония).

Фильтрат бульонной культуры штаммов после осаждения белковых фракций (из которых был выделен ХТ) выдерживали 30 сут при температуре 8–10 °С для снижения токсичности. Затем использовали ультрафильтрационную установку АУФ-01 (Россия) с полыми волокнами, осуществляющую частичную очистку центрифугата мембранной ультрафильтрацией (с удалением частиц молекулярной массы менее 100 кДа) и его одновременное концентрирование в 5–10 раз. Полученный концентрат анализировали на содержание О-антигена и очищали на колонке с TSK-гелем HW-60 при pH 7,2. О-антиген обнаруживался в первом пике (рис. 2).

Очищенные препараты О-антигена содержали от 14 до 16 мкг/мл полисахаридов, специфическая активность в РИД с соответствующими О-сыворотками составляла 1:64.

Чистоту полученных препаратов О-антигена проверяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Выделенные препараты содержали только полисахариды О антигена без примесей белков.

Пили отделяли от клеток с помощью встряхивателя (Vortex) со скоростью 2500 об/мин. Для освобождения от балластных белков препарат, содержащий ТКПА, растворяли в 125 мМ этанолаmine (pH 10,5) при 4 °С и диализовали против 10 мМ фосфатного буфера (pH 7,4). Выход продукта составлял в среднем 6,3 %.

По данным белкового электрофореза (рис. 3), выделенный препарат кроме ТКПА содержал белок внешней мембраны OmpU, который также обладает адгезивными свойствами. Методом иммуноблоттинга с коммерческой сывороткой к основной субъединице токсин-корегулируемых пилей адгезии – TsrA было подтверждено присутствие в препарате иммунологически активной полосы, соответствующей субъединице пилей TsrA с молекулярной массой 20,5 кДа.

Иммунологическую активность выделенных очищенных препаратов протективных антигенов (ХТ, ТКПА, О1-антигена сероваров Инаба и Огава) подтверждали получением кроличьих антисывороток. Животных иммунизировали по разработанным ранее схемам, описанным в разделе «Материалы и методы».

Антигенную активность приготовленных антисывороток определяли в РИД с соответствующими очищенными препаратами протективных антигенов. Было установлено, что антитоксическая сыворотка образовывала линию преципитации в разведениях 1:64 – 1:128, сыворотка против ТКПА – 1:32, сыворотки против О1-антигена Инаба и Огава – 1:16–1:32. Эти данные указывают на способность выделенных протективных антигенов образовывать специфические антитела в достаточно высоких титрах.

Поскольку полученные нами антисыворотки к О1-антигену серовара Инаба (АС) и Огава (АВ),

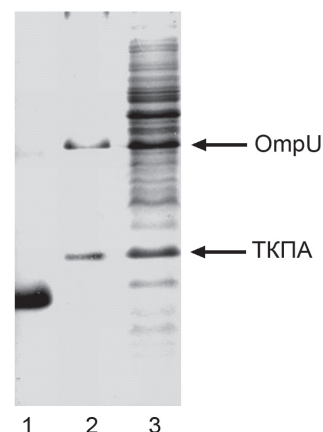


Рис. 3. Электрофореграммы лизата клеток штамма – продуцента протективных антигенов и выделенного из него белкового препарата, содержащего токсин-корегулируемые пили адгезии
1 – маркер молекулярной массы – 17,8 кДа; 2 – белковый препарат из *V. cholerae* KM206; 3 – общая белковая фракция штамма *V. cholerae* KM206

помимо специфических антител к антигенам С или В, содержали антитела к общему антигену А, то на следующем этапе была проведена работа по их удалению. Для этого сыворотки Инаба адсорбировали клетками штаммов *V. cholerae* М41 и R3122 серовара Огава, а сыворотки Огава – клетками штамма *V. cholerae* 569В серовара Инаба. После проверки полученных антисывороток в развернутой реакции агглютинации установлено, что антисыворотки Инаба агглютинировали только клетки штаммов *V. cholerae* серовара Инаба в диагностическом титре 1:400, а антисыворотки Огава реагировали лишь с клетками штамма *V. cholerae* серовара Огава (диагностический титр 1:800).

Результатом этого этапа работы явилось получение поликлональных антисывороток, содержащих в высоком титре специфические антитела к антигенам – ХТ, ТКПА, О1 антигену сероваров Инаба и Огава.

Таким образом, использование сконструированных ранее рекомбинантных штаммов *V. cholerae* позволило за один цикл выращивания выделить и очистить модифицированными нами эффективными способами три основных протективных антигена – ХТ, ТКПА и О1-антиген, а также получить на их основе поликлональные высокоактивные специфические антисыворотки. Наличие рекомбинантных штаммов холерного вибриона сероваров Инаба и Огава О1 серогруппы с повышенной продукцией основных протективных антигенов дает возможность получать тот или иной серовар О1-антигена в зависимости от используемого штамма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А. и др. Новый способ получения О-антигена холерного очищенного с целью создания холерных диагностических антисывороток. Биотехнология. 2002; 2:42–6.
2. Заднова С.П., Топорков А.В., Новикова О.В., Смирнова Н.И. Получение и использование антител на токсин-корегулируемые пили адгезии холерного вибриона. Биотехнология. 2003; 1:79–84.
3. Иммунологические методы. Под ред. Г.Фримеля. М.: Медицина; 1987. 471 с.
4. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А. и др. Холера в начале XXI века, прогноз. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 3:44–8.
5. Смирнов В.В., Чаплинский В.Я., Андреева З.М.,

Богоявленская Л.Б. Научные основы производства диагностических препаратов. Киев: Наукова думка; 1980. 195 с.

6. Топорков А.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И., Кутырев В.В. Штамм бактерий *Vibrio cholerae* КМ 206 классического биовара серовара Огава – продуцент протективных антигенов. Патент РФ 2222594, C12N 1/21 A61 K39/106/(C12N 1/21 C12R 1:63), 2004.

7. Шагинян И.А., Маракуша В.И. Модификация метода пассивного иммунного гемолиза на плотной среде для выявления продукции термолабильных энтеротоксинов штаммами холерных вибрионов и кишечной палочки. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1983; 2:92–6.

8. Kaper J.B., Morris J.G., Levin M.M. Cholera. Clin. Microbiol. Rev. 1995; 8(1):48–89.

9. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the head of the bacteriophage T4. Nature. 1970; 227(15):680–5.

10. Mekalanos J.J., Collier R.J., Romig W.R. Purification of cholera toxin and its subunits: new methods of preparation and the use of hypotoxinogenic mutants. Infect. Immun. 1978; 20:552–9.

11. Rappoport R.S., Bonde G., McCann T. et al. Development of a purified cholera toxoid. Infect. Immun. 1974; 9:304–17.

12. Smirnova N., Zadnova S.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. Construction of strains producing the main protective antigens of *Vibrio cholerae* based on altered expression of the global regulatory gene *toxR*. In: New Research on Biotechnology and Medicine. A.M.Egorov, G.E.Zaikov, editors. New York; 2006. P. 177–88.

13. Sun D., Mekalanos J.J., Taylor R.K. Antibodies directed against the toxin-coregulated pilus isolated from *Vibrio cholerae* provide protection in the infant mouse experimental cholera model. J. Infect. Dis. 1990; 161:1231–6.

Об авторах:

Захарова Т.Л., Заднова С.П., Ливанова Л.Ф., Киреев М.Н., Смирнова Н.И. Российской научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

T.L.Zakharova, S.P.Zadnova, L.F.Livanova, M.N.Kireev, N.I.Smirnova

Recombinant Strains Application for Simultaneous Preparation of Several Purified Cholera *Vibrio* Antigens

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Proposed is the method for simultaneous isolation and purification of three cholera vibrio key pathogenicity factors (cholera toxin, toxin-co-regulated adhesion pili, O1 antigen Ogawa or Inaba), which are main protective antigens, from previously constructed recombinant *Vibrio cholerae* strains 2415 Inaba and KM 206 Ogawa. Immunologic activity of the preparations was confirmed using polyclonal high-active specific antisera. Purified antigens can be used for creation and improvement of prophylactic and diagnostic preparations.

Key words: recombinant *Vibrio cholerae* strains, protective antigens, purification, antisera, specificity.

Authors:

Zakharova T.L., Zadnova S.P., Livanova L.F., Kireev M.N., Smirnova N.I. Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 11.11.08.

К 80-ЛЕТИЮ БОРИСА ФЕДОРОВИЧА СЕМЕНОВА

2 июня 2009 г. исполнилось 80 лет Борису Федоровичу Семенову, доктору медицинских наук, профессору, академику Российской академии медицинских наук, лауреату премий Совета министров СССР и Правительства Российской Федерации, Заслуженному деятелю науки РСФСР, главному научному сотруднику Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова.



Б.Ф.Семенов – известный иммунолог и вирусолог, талантливый педагог и организатор медико-биологической науки, ученый с мировым именем. Его фундаментальные исследования по иммунопатологии вирусных инфекций легли в основу создания многих отечественных противовирусных вакцин. С деятельностью Б.Ф.Семенова неразрывно связаны такие успехи отечественной медицины, как создание технологии рестриктирующих ферментов для исследований в молекулярной биологии и генной инженерии, тест-систем для скрининга и подтверждения ВИЧ-инфекции, методов коррекции вторичных иммунодефицитов разного происхождения.

Огромный вклад внесен им в разработку, научное обоснование и внедрение системы защиты населения Российской Федерации от биологических угроз. Более 30 лет Б.Ф.Семенов возглавлял Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, где под его руководством сформировались и успешно разрабатываются новые на-

учные направления в области вакцинологии, биотехнологии, клеточной инженерии, иммунотерапии и вакцинопрофилактики.

Фундаментальные научные труды Б.Ф.Семенова, посвященные клеточным и молекулярным основам иммунитета, стали учебными пособиями для исследователей и врачей. Сегодня Борис Федорович продолжает передавать свой богатейший опыт молодому поколению врачей и ученых, возглав-

ляя курс «Вакцинопрофилактика» на базе НИИ им. И.И.Мечникова.

Многогранна общественная деятельность Б.Ф.Семенова. Он многие годы является главным редактором Журнала микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии и Председателем Всероссийского общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов, способствуя повышению престижа российской медицинской науки.

Заслуги академика Б.Ф.Семенова перед медицинской наукой и здравоохранением отмечены орденом Почета, премиями Совета Министров СССР и Правительства Российской Федерации.

Редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляет Бориса Федоровича Семенова с юбилеем и желает ему доброго здоровья, долгой и счастливой жизни, талантливых учеников, новых творческих успехов на благо науки и отечественного здравоохранения.

К 80-ЛЕТИЮ СЕРГЕЯ ГРИГОРЬЕВИЧА ДРОЗДОВА

24 июня 2009 г. исполнилось 80 лет Сергею Григорьевичу Дроздову, доктору медицинских наук, профессору, академику Российской академии медицинских наук, лауреату Государственной премии Российской Федерации, главному научному сотруднику Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова.



С.Г.Дроздов является видным российским вирусологом и эпидемиологом. Им внесен неоценимый вклад в разработку и реализацию программы ВОЗ по ликвидации полиомиелита: доказана ареактогенность, иммунологическая и эпидемиологическая эффективность

живой полиомиелитной вакцины из штаммов Сэбина, разработаны принципы массовой вакцинации населения. В 2002 г. С.Г.Дроздов как член Европейской региональной комиссии ВОЗ по сертификации ликвидации полиомиелита подписал сертификат, свидетельствующий об отсутствии полиомиелита в Европе.

Область научных интересов академика Дроздова необычайно широка и включает вирусологические и эпидемиологические аспекты клещевого энцефалита, ротавирусного гастроэнтерита, тропических геморрагических лихорадок, биологическую безопасность в вирусологических лабораториях, разработку

методов борьбы с вирусами, загрязняющими окружающую среду.

Более 30 лет С.Г.Дроздов возглавлял Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова, на высоком уровне обеспечивая его эффективную и многогранную деятельность в области изучения этиологии, эпидемиологии, иммунологии и патогенеза вирусных инфекций, разработки методов их профилактики и лечения. Он создал научную школу вирусологов. Монографии С.Г.Дроздова и многочисленные публикации в научных журналах стали учебным пособием для врачей и исследователей.

Заслуги академика С.Г.Дроздова перед медицинской наукой и здравоохранением отмечены двумя орденами Трудового Красного Знамени, орденом «За заслуги перед Отечеством», премией Совета Министров СССР, Государственной премией Российской Федерации.

Редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляет Сергея Григорьевича Дроздова с юбилеем и желает ему доброго здоровья, долгой и счастливой жизни, талантливых учеников, новых творческих успехов на благо науки и отечественного здравоохранения.

К 75-ЛЕТИЮ РОСТОВСКОГО-НА-ДОНУ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА

Ростовскому-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательскому противочумному институту в 2009 г. исполнилось 75 лет.

Институт основан 5 июня 1934 года решением Совета Труда и Оборона с целью планомерной разработки и осуществления мероприятий по ликвидации эпизоотии чумы на территории Азово-Черноморского края и Северного Кавказа.

В период 1934–1940 гг. была проведена большая работа по эпизоотологическому обследованию Северо-Западного Прикаспия, выполнены оригинальные исследования по эпизоотологии, эпидемиологии, патогенезу, клинике чумы и разработаны методы борьбы с грызунами-носителями инфекций, что явилось основой для развертывания радикальных мер по ликвидации природной энзоотии чумы в регионе. За оздоровление чумного очага сотрудники института (О.Н.Бочарников, К.С.Карпузиди, И.З.Климченко, А. М. Коннова, П.Н.Ступницкий, И.С.Тинкер, А.К.Шишкин, И.Г.Иофф, Н.И. Калабухов) в 1952 г. были удостоены Государственной премии СССР.

В годы Великой Отечественной войны специалисты института обеспечивали эпидемическое благополучие в войсках Южного направления и других фронтов. Более 20 сотрудников были награждены орденами и медалями. В послевоенный период основные усилия были направлены на разработку методов серологической диагностики с целью совершенствования надзора за состоянием природных очагов чумы, системы борьбы и профилактики бруцеллеза и туляремии. За участие в создании противотуляремийной вакцины профессор Б.Я.Эльберт получил Государственную премию СССР.

В 60-е годы круг научно-практической деятельности института расширился за счет фундаментальных исследований по биохимии, молекулярной биологии и генетике возбудителей особо опасных инфекций, решения задач санитарной охраны территории. Сотрудники института принимали активное участие

в ликвидации вспышек чумы и холеры в Китае, Монголии, Пакистане, Афганистане, Вьетнаме, Сомали и Индии. Ростовский-на-Дону НИПЧИ был инициатором создания специализированных противэпидемических бригад, и в 1963 г. был издан приказ Министерства здравоохранения СССР № 466 от 30 сентября «О создании специализированных противэпидемических бригад в противочумных учреждениях». С 1965 г. специализированные противэпидемические бригады института осуществили более 60 выездов в различные регионы СССР и России, в том числе Ленинскан, Дагестан, Чечню.

В Ростовском-на-Дону НИПЧИ в разное время работали видные отечественные ученые – Н.Н.Жуков-Вережников, Г.П.Руднев, И.С.Тинкер, П.Н.Ступницкий, Н.П.Миронов, А.К. Шишкин, К.С.Карпузиди, Г.А.Баландин, М.С.Дрожевкина, В.Н.Милютин, Л.Н.Макаровская., Х.П.Гамлешко, Г.М.Мединский, А.Е.Либинзон и другие.

В настоящее время Ростовский-на-Дону НИПЧИ является крупным научно-исследовательским учреждением России по особо опасным инфекциям. В институте работают 140 научных сотрудников, в том числе 65 кандидатов наук, 18 докторов наук, 2 заслуженных деятеля науки Российской Федерации, 6 профессоров. С 1988 г. его директором является заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор Юрий Михайлович Ломов.

Ростовский-на-Дону НИПЧИ является региональным центром мониторинга возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и референс-центром мониторинга холеры. На базе института организованы Центр генной диагностики, Центр патогенных вибрионов.

Основными направлениями научных исследований Ростовского-на-Дону НИПЧИ в настоящее время являются эпидемиологический надзор за особо опасными инфекционными болезнями и краевой патоло-

гией Ростовской области и юга России; диагностика, профилактика и лечение особо опасных инфекционных болезней; биомедицинские и молекулярно-генетические аспекты изучения опасных инфекционных болезней; изучение возбудителя холеры и других патогенных вибрионов.

С 1971 г. Ростовский-на-Дону НИПЧИ был определен как головной по проблеме «Холера» с целью координации научных исследований в плане изыскания эффективных средств и методов диагностики, лечения, специфической и неспецифической профилактики, а также разработки мер по обеспечению эпиднадзора за этой инфекцией. Результаты научных исследований и опыт работы по организации и проведению противохолерных мероприятий нашли отражение в многочисленных нормативно-методических документах различного уровня, монографиях и справочниках. Ежегодно на базе института проходят заседания проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы» Координационного научно-го совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации Роспотребнадзора и РАМН, в которых участвуют специалисты из учреждений России и стран СНГ, обсуждаются актуальные вопросы по приоритетным направлениям, освещается эпидобстановка по холере в мире, России и странах СНГ с определением тенденции ее развития и прогноза. К каждому заседанию институт выпускает сборник материалов проблемной комиссии, раз в 5 лет проводятся научные конференции по холере с изданием научных трудов.

В институте продолжают развиваться направления исследований по чуме, туляремии, бруцеллезу: изучение основ вирулентности, формирования иммунитета, иммунопатологические реакции при инфицировании макроорганизма, профилактическое и лечебное действие различных антибактериальных препаратов, методы борьбы с развитием антибиотикорезистентности, получение моноклональных антител. Ведутся исследования в отношении вновь возникающих и возвращающихся инфекций: анализ экологических и эпидемиологических аспектов клещевых природно-очаговых инфекционных болезней в Ростовской области (Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Ку, иксодовые клещевые боррелиозы), изучение возбудителей легионеллеза, листериоза и лихорадки Западного Нила. Совершенствуются традиционные методы диагностики, успешно развивается генодиагностика в том числе вирусных гепа-

титов, *Helicobacter pylori* и других инфекций.

В соответствии с Регламентом (стандартом) функционирования СПЭБ, утвержденным приказом Роспотребнадзора № 330 от 22.11.2007 г., СПЭБ института модернизированы по единому стандарту на основе пневмокаркасных модулей, укомплектованы современным лабораторным оборудованием, спутниковым навигационным и коммуникационным оборудованием. Ежегодно проводятся учения с полным развертыванием СПЭБ.

Развиваются ГИС-технологии, сформированы проблемно-ориентированные фактографические базы данных: «Холера Эльтор. Эпидемиологический анализ заболеваемости», «Холера. Оперативный эпидемиологический анализ», «Холерные вибрионы. Россия», «Геоинформационная система «Туляремия», «Геоинформационная система «Чума», «Штаммы VNTR» и другие. Научные достижения сотрудников института в результате активной патентно-лицензионной деятельности защищены патентами (только за последние 5 лет получено около 30 патентов).

Специалистами института опубликовано более 5000 научных работ, издано 30 монографий, выпущено 75 сборников трудов, получено около 300 авторских свидетельств и патентов, подготовлено 250 кандидатов и 60 докторов наук. Более 6000 специалистов учреждений противочумной системы и центров санэпиднадзора прошли специализацию по особо опасным инфекциям на базе Ростовского-на-Дону НИПЧИ.

За вклад в развитие здравоохранения страны 90 сотрудников института награждены орденами и медалями, пяти присвоено почетное звание Заслуженный врач РСФСР, двоим – Заслуженный деятель науки Российской Федерации, четверем – «Почетный работник Госсанэпидслужбы Российской Федерации». К 50-летию (1984 г.) институт был награжден орденом Трудового Красного Знамени.

В юбилейный год Ростовский-на-Дону институт как структурная единица Роспотребнадзора бережно хранит и чтит традиции отечественной медицинской науки и неуклонно развивает свой научный потенциал, внося вклад вместе с другими учреждениями противочумной службы в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны.

Ю.М.Ломов, Н.Р.Телесманич,
В.В.Кучин, Е.И.Марковская

**К 75-ЛЕТИЮ
ИРКУТСКОГО ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА
СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА**

Иркутскому ордену Трудового Красного Знамени научно-исследовательскому противочумному институту Сибири и Дальнего Востока в 2009 г. исполнилось 75 лет.

Институт учрежден Приказом Уполномоченного Совета Труда и Оборона СССР № 1 от 5 июня 1934 г. как научно-оперативный орган по борьбе с чумой. В последующие годы в сферу ответственности института вошли и другие особо опасные инфекционные болезни – холера, бруцеллез, туляремия, сибирская язва, арбовирусные инфекции.

Основателем и первым руководителем института был выдающийся эпидемиолог-микробиолог профессор Алексей Михайлович Скородумов, автор фундаментального труда «Чума в Сибири» (1937 г.). По его инициативе была организована противочумная система Сибири и Дальнего Востока. Другой выдающийся ученый, трудившийся в стенах института в 1939–1947 гг. – профессор Николай Акимович Гайский, сконструировал и внедрил в практику высокоэффективную живую аттенуированную туляремию вакцину, применяющуюся и в настоящее время.

После А.М.Скородумова институт возглавляли Ф.Ф.Бугайчук (1938–1940), В.Н.Тер-Вартанов (1940–1941), Н.И.Макаров (1941–1945), Н.Т.Быков (1945–1948), Н.Д.Алтарева (1948–1957), И.В.Домарадский (1957–1964), М.И.Анциферов (1964–1965), А.Д.Сафонова (1965–1978), Е.П.Голубинский (1978–2008). В 2008 г. директором института назначен С.В.Балахонов.

В годы Великой Отечественной войны, несмотря на то, что часть сотрудников была мобилизована на фронт, Иркутский НИПЧИ приступил к производству препаратов для лечения и профилактики чумы (вакцина, противочумная сыворотка), холерной вакцины, питательных сред. Продолжались исследования иммунитета при туляремии и вакцинального процесса при ней, изучение Забайкальского природного очага чумы. Сотрудники института участвовали в противоэпидемических мероприятиях в Бурят-Монгольской АССР, Читинской и Иркутской областях, Монголии.

В послевоенные годы в коллектив пришли Л.А.Тимофеева, И.Ф.Жовтый, А.Ф.Пинигин, Л.Е.Хунданов, Л.С.Колесник, М.Е.Анциферов, В.А.Краминский, Г.Г.Коробков, а несколько ранее Н.В.Никипелов, ставшие вскоре ведущими специалистами и возглавившие перспективные направления научной и практической деятельности института. В этот период открыты противочумные отделения института в Тувинской АССР (Кызыл) и Горно-Алтайской автономной области (Горно-Алтайск).

Плодотворной была деятельность института в 60–70-е годы XX века, когда выявлены Горно-

Алтайский (Сайлюгемский) (1961 г.) и Тувинский (1964 г.) природные очаги чумы. Велось изучение их пространственной и биоценотической структуры, осуществлялись комплексные исследования по регуляции численности носителей и переносчиков. Впервые выявлены очаги бруцеллеза северных и пятнистых оленей, моралов, яков, инфекционного эпидидимита баранов, установлена природная очаговость бруцеллеза в районах Крайнего Севера. Выявлены и изучены природные очаги туляремии на 10 административных территориях Сибири и Дальнего Востока. Большую работу выполнили СПЭБы института по проведению противоэпидемических и профилактических мероприятий в очагах холеры (Средняя Азия, Поволжье, Черноморское побережье, Украина, Западная Сибирь).

В последующие годы совершенствовались структура института, его оснащение оборудованием, внедрялись современные методы исследования. Это позволило углубить знания о механизмах энзоотии чумы в природных очагах Сибири; выдвинуть положение о существовании дополнительного, водного пути циркуляции возбудителя туляремии в окружающей среде, провести масштабные исследования по экологии возбудителей чумы, холеры, бруцеллеза, сибирской язвы. Серьезное внимание уделялось разработке методов диагностики опасных и природно-очаговых болезней; производству медицинских иммунобиологических препаратов для диагностики и дифференциации возбудителей особо опасных и актуальных инфекций, таксономическим и другим фундаментальным исследованиям. Деятельность института всегда была направлена на внедрение результатов научных исследований в практику.

Началом международного сотрудничества института следует считать совместное совещание специалистов противочумных учреждений СССР и МНР в 1943 г., хотя безвозмездная помощь Монгольской Народной Республике оказывалась советскими специалистами постоянно со дня ее провозглашения (1921 г.). Специалисты института принимали участие в проведении противоэпидемических мероприятий, эпизоотологическом обследовании, готовили монгольские кадры и проводили научные исследования в природных очагах. Большую роль сыграли советские эпидотряды в обеспечении санитарной охраны территории обеих стран, изучении приграничных очагов чумы Монголии (1958–1960 гг., 1967–1989 гг.). В эти же годы Иркутский НИПЧИ успешно выполнял совместные исследования с Институтом особо опасных инфекций Минздрава МНР, результаты которых обсуждены на шести совместных советско-монгольских конференциях.

В настоящее время институт представляет собой многопрофильное научно-исследовательское и противозидемическое учреждение, обеспечивающее совместно с управлениями, региональными центрами гигиены и эпидемиологии, противочумными станциями Роспотребнадзора эпидемическое благополучие по особо опасным бактериальным и вирусным инфекциям в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. В институте работают 82 научных сотрудника, из которых 12 докторов и 37 кандидатов медицинских и биологических наук.

Иркутский НИПЧИ выполняет функции Регионального центра мониторинга возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности, Центра индикации возбудителей и диагностики опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора для субъектов Сибирского федерального округа и Референс-центра мониторинга природно-очаговых инфекций. В институте функционирует филиал Центра генной диагностики особо опасных инфекционных болезней.

Сотрудниками института опубликовано 22 монографии, более 4500 научных работ, подготовлено свыше 250 нормативно-методических документов, получено 65 авторских свидетельства и патентов на изобретения.

Иркутский НИПЧИ поддерживает деловые и творческие связи с коллегами из КНР и Монголии. Развивается сотрудничество со специалистами США, Франции, Германии, Великобритании.

Научно-производственный отдел института выпускает иммунобиологические препараты и питательные среды для медицинских учреждений страны. Институт поддерживает в готовности резервные производственные мощности для работы в чрезвычайных ситуациях.

Иркутский НИПЧИ имеет лицензии: на право осуществления образовательной деятельности в сфере профессионального образования; деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний; медицинской деятельности и аккредитован на научно-техническую компетенцию и независимость для разработки нормативных и методических документов по разделу «эпидемиология».

За заслуги в противозидемической, научно-исследовательской и научно-производственной работе в 1984 г. институт награжден орденом Трудового Красного Знамени. Профессор Н.А.Гайский – лауреат Государственной (Сталинской) премии, профессор И.Ф.Жовтый и Е.П.Голубинский удостоены звания

Заслуженный деятель науки Российской Федерации. Многие сотрудники института награждены высокими правительственными наградами СССР, Российской Федерации и Монголии.

В рамках выполнения решения саммитов «Группы восьми» (Россия, 2006, Германия, 2007, Япония, 2008) и в соответствии с Распоряжением Правительства РФ № 642р от 21.05.2007 г., Приказом Главного государственного санитарного врача № 225 от 20.07.2007 г. в институте функционируют две специализированные противозидемические бригады. Сформированы подразделения с использованием пневмокапсовых систем, оснащенные современным оборудованием и обеспеченные высококвалифицированными специалистами. В настоящее время институт приступил к следующему этапу модернизации СПЭБ – созданию лабораторных модулей на базе автошасси, которые наиболее полно реализуют принцип автономности и мобильности санитарно-противозидемического формирования экстренного реагирования. Ведется большая работа по гармонизации нормативных документов Российской Федерации с Международными медико-санитарными правилами (2005).

Иркутский НИПЧИ оказывает консультативно-методическую и практическую помощь противочумным станциям (Алтайская, Тувинская, Читинская, Хабаровская, Приморская), органам и учреждениям Роспотребнадзора и здравоохранения на 11 административных территориях Сибири и Дальнего Востока в осуществлении эпиднадзора за чумой в сибирских природных очагах, противохолерных, а также противозидемических и профилактических мероприятий по бактериальным зоонозам (бруцеллез, туляремия, сибирская язва, лептоспироз, иерсиниозы) и вирусным (бешенство, клещевой энцефалит, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом) инфекциям, по соблюдению требований биологической безопасности и внедрению современных методов лабораторной диагностики.

К своему 75-му юбилею Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока подошел со значительными достижениями в научно-исследовательской, противозидемической, образовательной, производственной и хозяйственной деятельности.

*С.В.Балахонов, Т.И.Иннокентьева,
А.Г.Трухина*