

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 научных рецензируемых журналов и изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций*

Выпуск 98

4 · 2008

САРАТОВ

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,
Н.А.Савиновой

Подписано в печать 02.12.08.
Формат 60×88 1/8.
Бумага офсетная.
Печать офсетная.
Гарнитура Таймс.
Тираж 500 экз.
Заказ 1046

Подписной индекс – 24687

ISSN 0370-1069. Пробл. особо
опасных инф. 2008. Вып. 98. 1–66



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 (Оболенск),
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»*

© Федеральное государственное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2008

**Problemy
osobo opasnyh infekcij**

ISSN 0370-1069

**Problems
of Particularly Dangerous Infections**

Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Куличенко А.Н., Топорков В.П. Специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ): опыт работы и тактика применения в современных условиях.....

5

Эпидемиология

Марамович А.С., Косилко С.А., Иннокентьева Т.И., Воронова Г.А., Никитин А.Я., Базанова Л.П., Окунев Л.П. Эпидемиологические закономерности чумы в Индии и обоснование мероприятий по санитарной охране территории Сибири и Дальнего Востока ...

15

Никитин А.Я., Балахонов С.В., Андаев Е.И., Хазова Т.Г., Евтушок Г.А., Козловский Л.И., Иванова Е.В. Эпидемиологическая обстановка по клещевому энцефалиту, ее прогноз и основные направления профилактических мероприятий в регионах Сибири

21

Топорков В.П., Величко Л.Н., Шиянова А.Е., Куклев Е.В., Попов Н.В., Тарасов М.А., Щербакова С.А., Караваева Т.Б. Динамика заболеваемости ГЛПС по федеральным округам Российской Федерации с 2001 по 2007 год.....

25

Микробиология

Баркова И.А., Алексеев В.В., Липницкий А.В., Барков А.М., Буханцова Л.В. Продукция белков S-слоя разными штаммами *Bacillus anthracis*

29

Григорьев А.А., Борисевич И.В., Дармов И.В., Бондарев В.П., Кузнецов С.Л., МIRONIN A.B., Погорельский И.П., Летаров А.В., Куликов Е.Е., Манькин А.А. Выделение и свойства туляремийного бактериофага ГАЛ

33

Кузьмиченко И.А., Киреев М.Н., Громова О.В., Бронникова В.С., Нижегородцев С.А. Гидролизующая способность протеазы ферментного комплекса холерного вибриона – протеовибрина по отношению к белковым субстратам

37

Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ генов *nap* оперона у штаммов *Yersinia pestis* разных подвидов

40

Onischenko G.G., Toporkov A.V., Toporkov V.P., Koulitchenko A.N., Kutyrev V.V. Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET): the Experience of Work and Tactics of their Employment in Modern Conditions

Epidemiology

Maramovich A.S., Kosilko S.A., Innokentieva T.I., Voronova G.A., Nikitin A.Ya., Basanova L.P., Okunev L.P. Epidemiological Regularities of Plague in India and Substantiation of Measures on Sanitary Protection of Siberia and Far East Territories

Nikitin A.Ya., Balakhonov S.V., Andaev E.I., Khazova T.G., Evtushok G.A., Kozlovsky L.I., Ivanova E.V. Tick-Borne Encephalitis Epidemiological Situation, its Prognostication and Main Trends of Preventive Measures in Siberian Regions

Toporkov V. P., Velichko L.N., Shiyanova A.E., Kouklev E.V., Popov N.V., Tarasov M.A., Scherbakova S.A., Karavaeva T.B. HFRS Morbidity Dynamics in Federal Districts of the Russian Federation from 2001 to 2007

Microbiology

Barkova I.A., Alexeev V.V., Lipnitsky A.V., Barkov A.M., Bukhantsova L.V. Production of S-layer Proteins by Different *Bacillus anthracis* Strains

Grigor'ev A.A., Borisevich I.V., Darmov I.V., Bondarev V.P., Kuznetsov S.L., Mironin A.V., Pogorelsky I.P., Letarov A.V., Koulikov E.E., Manykin A.A. Isolation of GAL Tularemia Bacteriophage and its Characteristics

Kuzmichenko I.A., Kireev M.N., Gromova O.V., Bronnikova V.S., Nizhegorodtsev S.A. Hydrolyzing Ability of Protease of Enzyme Complex of Cholera Vibrio that is Proteovibrin for Protein Substrates

Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Vidyaeva N.A., Krasnov Ja.M., Gouseva N.P., Kutyrev V.V. Structural and Functional Analysis of *nap* Operon Genes in *Yersinia pestis* Strains of Different Subspecies

Иммунология, биотехнология

- Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Дальвадянт С.М., Кутырев В.В.** Эндотоксин *Yersinia pestis*: особенности структуры, рецепции и механизмов индукции цитопатогенных эффектов (обзор) 43
- Бугоркова С.А., Куклев В.Е., Бугоркова Т.В., Мальных З.В., Кутырев В.В.** Сравнительный морфометрический анализ экспериментальной чумной инфекции, обусловленной *Yersinia pestis* штаммами с различной генетической характеристикой 49
- Ветчинин С.С., Копылов П.Х., Киселева Н.В., Баранов А.М., Баранова Е.В., Галкина Е.В., Борзилов А.И., Калачев И.Я.** Получение моноклональных антител к белкам наружной мембраны *Burkholderia pseudomallei* штамма C-141 54

История института

- Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (к 90-летию) 58

Юбилеи

- К 80-летию Алексея Константиновича Адамова 63
- К 60-летию Юрия Алексеевича Попова 63
- К 80-летию Михаила Степановича Веренкова 64
- К 90-летию Натальи Федоровны Дарской 64

Памяти коллеги

- Памяти Саркиза Мкртычевича Дальвадянца (1935–2008) 65

- Правила для авторов 66

Immunology, Biotechnology

- Afanasieva G.A., Chesnokova N.P., Dalvadyant S.M., Kutyrev V.V.** Endotoxin of *Yersinia pestis*: Structural Peculiarities, Mechanisms of Reception and Induction of Cytopathogenic Effects (Review) 43
- Bugorkova S.A., Kouklev V.E., Bugorkova T.V., Malykhina Z.V., Kutyrev V.V.** Comparative Morphometric Analysis of Experimental Plague Infection Caused by *Yersinia pestis* Strains with Different Genetic Characteristics 49
- Vetchinin S.S., Kopylov P.C., Kiseleva N.V., Baranov A.M., Baranova E.V., Galkina E.V., Borzilov A.I., Kalachev I.Y.** Production of Monoclonal Antibodies against Outer Membrane Proteins of *Burkholderia pseudomallei*, Strain C-141 54

History of the Institute

- Russian Anti-Plague Research Institute “Mocrobe” (to the 90-th anniversary) 58

Anniversaries

- To the 80-th anniversary of Aleksey K. Adamov 63
- To the 60-th anniversary of Uriy A. Popov 63
- To the 80-th anniversary of Mikhail S. Verenkov 64
- To the 90-th anniversary of Natalia F. Darskaya 64

Revering the Memory of the Colleague

- Of blessed memory of Sarkis Mkrtychevich Dalvadyantc (1935–2008) 65

- Instruction to Authors 66

Г.Г.Онищенко¹, В.В.Кутырев², А.В.Топорков², А.Н.Куличенко³, В.П.Топорков²

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ БРИГАДЫ (СПЭБ): ОПЫТ РАБОТЫ И ТАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва;

²ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов;

³ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт»

На основе целенаправленного анализа опыта работы СПЭБ проведена оценка их структурно-функционального варьирования при оказании помощи территориальным структурам здравоохранения (органам управления здравоохранением и органам, уполномоченным осуществлять государственный санитарно-эпидемиологический надзор); выделены три типа ситуаций, определяющих приоритетную востребованность СПЭБ и тактику их применения при ликвидации чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на национальном и международном уровнях.

Ключевые слова: ЧС, санитарно-эпидемиологическое благополучие, СПЭБ, тактика, типовые ситуации.

В соответствии с решениями саммита стран «Группы восьми» (2006 г.) и в контексте укрепления международных сил оперативного реагирования в рамках реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) осуществляется модернизация российских специализированных противозидемических бригад (СПЭБ). Реализуемые в настоящее время мероприятия по модернизации СПЭБ являются подготовкой для применения их в случае необходимости на территории Российской Федерации, а также на международном уровне, в том числе в рамках деятельности Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [7, 13]. На это направлены исполнение распоряжения Правительства Российской Федерации от 21 мая 2007 г. о финансировании мероприятий по укреплению материально-технической базы, инфраструктуры, модернизации 10 специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) 5 противочумных институтов Роспотребнадзора [25], приказов Роспотребнадзора от 20.07.2007 г. № 225 «О совершенствовании организации работы специализированных противозидемических бригад, сформированных на базе ФГУЗ «Научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора» и от 22.11.2007 г. № 330 «О Регламенте функционирования СПЭБ» [20, 21].

В связи с этим актуальной научно-практической задачей является разработка тактики применения модернизированных СПЭБ при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения (далее ЧС). Основой для предлагаемой тактики применения СПЭБ, наряду со значительно расширившимися материально-техническими возможностями (в результате осуществляемой модернизации), является реальный опыт их работы, достижения отечественной эпидемиологии, рекомендации ВОЗ и дифференцированный подход к оценке ЧС [29].

В структурно-функциональном отношении СПЭБ являются производными системы противочумных учреждений.

Опыт работы СПЭБ на территории Российской Федерации и других государств-участников СНГ (в прошлом СССР), созданных и функционирующих на базе специализированной сети противочумных учреждений, и, в целом, системы государственного санитарно-эпидемиологического надзора, является уникальным, не имеющим аналогов в теории и практике оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

СПЭБ были созданы на базе противочумных учреждений в 1963 г. в соответствии с приказом Министерства здравоохранения СССР № 466 от 30.09.1963 г. В этот период как компонент государственной системы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения именно противочумные учреждения, являясь специализированными, оперативными, обладали наиболее передовыми навыками работы в полевых условиях и были укомплектованы высококлассными специалистами эпидемиологами и микробиологами. Поэтому основой для принятия решения о создании СПЭБ послужила преемственность полученного опыта противочумных учреждений и достижений отечественной эпидемиологии прежде всего в вопросах планирования и организации на системной основе комплекса санитарно-противозидемических (профилактических) мероприятий с оценкой качества и эффективности их проведения [1, 3, 4, 30].

В современных условиях в связи с устойчивой тенденцией возникновения новых вызовов, биологических и химических угроз с трудно предсказуемыми катастрофическими социально-экономическими и политическими последствиями системный подход в организации борьбы с ЧС не утратил своей актуальности [16, 26].

Совершенствование структурно-функциональной организации и определение сферы деятельности СПЭБ включает использование системного подхода, а методология и технология оперативного реагирования.

ния с их применением отрабатывались при ликвидации ЧС различного характера и масштаба, возникавших на территории страны. В литературе имеются сведения о 117 таких ЧС [24].

Реальный опыт работы по оказанию помощи территориальным структурам здравоохранения (органам управления здравоохранением и органам госсанэпиднадзора) СПЭБ приобрели:

- в зонах ЧС естественного происхождения при ликвидации масштабных эпидемических проявлений и локальных вспышек инфекционных болезней;

- в зонах землетрясения, наводнения в процессе противоэпидемического обеспечения спасательно-восстановительных работ, в том числе в условиях разрушенной системы территориального здравоохранения;

- в зонах социальных конфликтов с гуманитарными последствиями при проведении антитеррористических мероприятий [2, 5, 8, 11, 12, 17, 28, 31].

Анализ работы СПЭБ за 45-летний период показал, что наиболее частыми были выезды в очаги холеры, а наиболее употребляемым тактическим приемом – работа СПЭБ в виде оперативных групп специалистов (эпидемиологов и микробиологов).

Полный функциональный спектр деятельности СПЭБ и высокая производительность при проведении диагностических исследований раскрылись в процессе оказания помощи территориальным структурам здравоохранения в период ликвидации эпидемий холеры в Поволжье в 1970–1974 гг., в Республике Дагестан в 1994 г., локальных вспышек особо опасных инфекционных болезней, в том числе сибирской язвы в Республике Мордовия в 1999 г., холеры в Республике Татарстан (Казань) в 2001 г., а также при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в зоне землетрясения в Республике Армения в 1988–1989 гг. [6, 10, 14].

Весь спектр функциональных нагрузок на СПЭБ при оказании помощи структурам здравоохранения в условиях неожиданно возникшей крупномасштабной эпидемии, значительно превосходившей технические, кадровые и профессиональные возможности территориальных структур здравоохранения в ее ликвидации, можно рассмотреть на примере эпидемии холеры в Дагестане в 1994 г. [10].

Эпидемия холеры была зарегистрирована в Республике Дагестан, когда в период с 6 июня по 25 декабря выявлено 1119 больных и 1240 вибрионосителей. В эпидемический процесс было вовлечено 184 населенных пункта, 27 районов, 8 городов (Махачкала, Каспийск, Хасавюрт, Кизляр, Избербаш, Дербент, Даг. Огни, Кизилюрт). Общая численность проживающего населения в Республике Дагестан на 01.01.94 г. составила 2004,9 тыс. человек, в том числе городского – 847,7 тыс. человек (42,3 %).

Наиболее интенсивный рост инфицированности холерой пришелся на период с 23.07.94 по 04.09.94 г., пик инфицированности – на первую половину августа. Именно в эти сроки были задействованы 6

СПЭБ противочумных институтов (Ростовского – 2, Ставропольского – 1, РосНИПЧИ «Микроб» – 2, Волгоградского – 1).

В полном составе СПЭБ были развернуты в крупных городах (Махачкала, Дербент, Избербаш, Хасавюрт) с привязкой к наиболее пораженным холерой административным районам Республики Дагестан.

По мере снижения интенсивности эпидемического процесса вследствие осуществления необходимых мер по борьбе с холерой силы СПЭБ из крупных населенных пунктов стали рассредоточиваться по населенным пунктам всех административных районов (главным образом горных) с наиболее устойчивым течением эпидемического процесса, где штат местных специалистов не позволял в должном объеме, качественно и эффективно проводить санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия.

Оперативные группы специалистов СПЭБ (эпидемиологов, микробиологов) работали в 27 районах республики. Наиболее продолжительной была работа групп СПЭБ в регионе, включающем Гергебильский, Шамильский, Унцукульский горные районы, где было зарегистрировано около 1/3 инфицированных холерным вибрионом лиц, и где водный фактор играл существенную роль в поддержании устойчивости очагов холеры [15].

Функциональный спектр оказания помощи органам управления здравоохранением, органам госсанэпиднадзора со стороны СПЭБ в Дагестане составил:

- количественное и качественное усиление кадрового потенциала эпидемиологов и микробиологов за счет специалистов, обладавших опытом организации работы в очагах холеры, владевших приемами конструктивного эпидемиологического анализа и информационного обеспечения противоэпидемических мероприятий, обеспечения биологической безопасности при работе с микроорганизмами I-II групп патогенности в лабораториях госсанэпиднадзора и лечебно-профилактических учреждениях, в том числе в специально развернутой госпитальной базе;

- повышение эффективности проведения эпидемиологического анализа, качества расшифровки генеза наиболее устойчивых эпидемических очагов, особенно в горных районах, эффективности мероприятий по их ликвидации;

- количественное и качественное увеличение производственных мощностей диагностических исследований, практическое исполнение санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

Весь спектр функциональной нагрузки на СПЭБ при оказании помощи региональному здравоохранению приведен на рис. 1.

Согласно схеме, приведенной на рис. 1, основным признаком первого типа ситуации, приоритетной для деятельности СПЭБ, являются масштабные эпидемические проявления особо опасных инфекци-

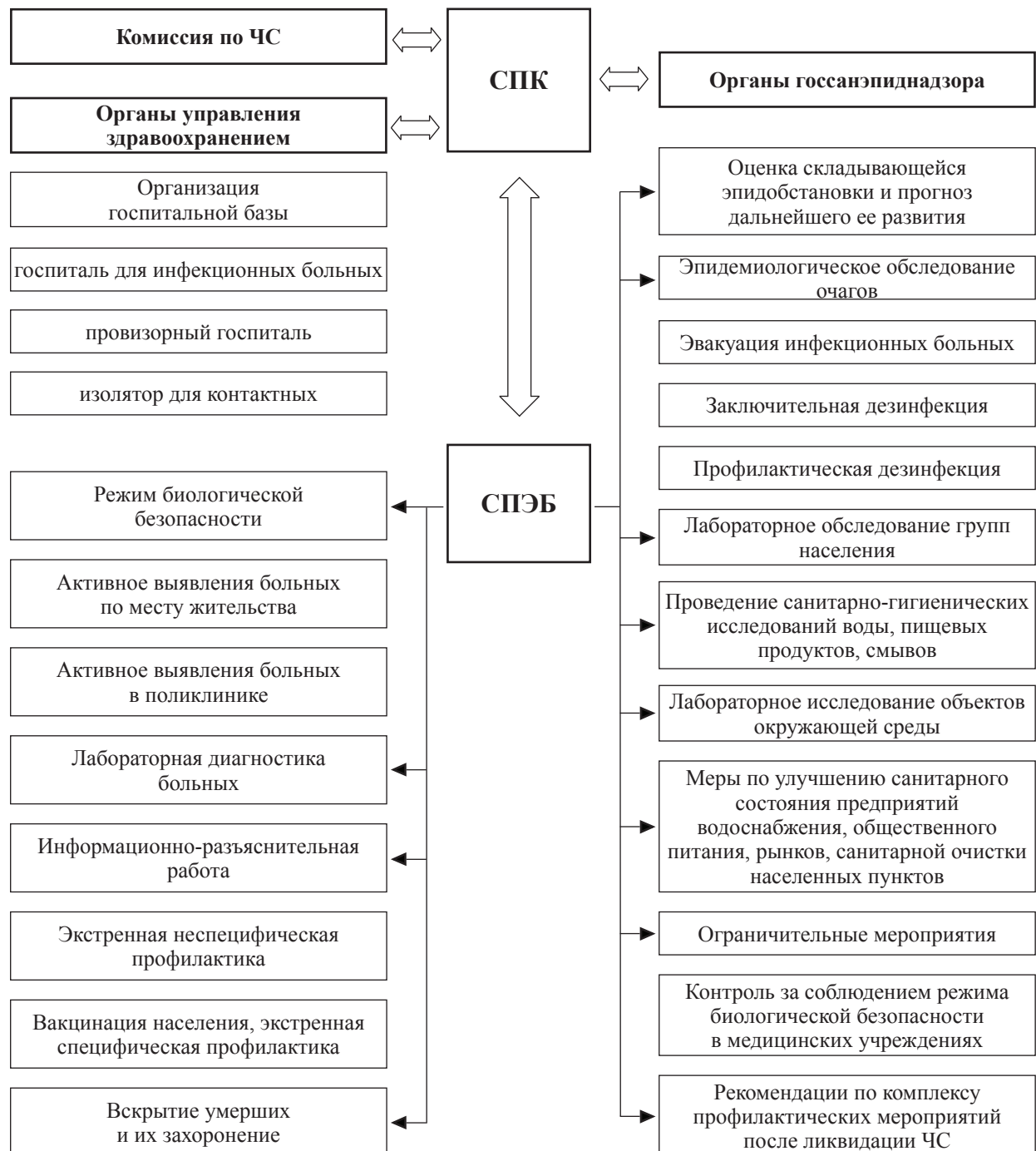


Рис. 1. Схема оказания помощи СПЭБ территориальным структурам здравоохранения при крупномасштабных эпидемических проявлениях особо опасных инфекционных болезней

онных болезней, значительно превосходявшие возможности территориальных структур здравоохранения по их ликвидации. В этой ситуации СПЭБ реализует весь свой структурно-функциональный потенциал, направленный на локализацию и ликвидацию данной ЧС, в качестве усиления местных структур здравоохранения.

Как известно, в функции СПЭБ входит верификация и ликвидация последствий актов биологического терроризма [15]. Предположительно, характер возникновения ЧС такого плана и спектр структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ будут близкими к первому типу ситуации, поскольку, вероятно, пред-

намеренное инициирование развития эпидемического процесса будет происходить согласно присущим ему естественным закономерностям и механизмам передачи при конкретных инфекционных болезнях. Поэтому выделение отдельного типа ситуации, приоритетной для деятельности СПЭБ, в случае акта биологической агрессии на данном этапе представляется не целесообразным.

Вторую типовую ситуацию, приоритетную для деятельности СПЭБ, необходимо рассмотреть на примере ликвидации медико-санитарных последствий в зоне землетрясения в Армении в 1988–1998 гг.

В зоне землетрясения погибло 25 тыс. человек,

из-под завалов извлечено около 40 тыс. человек, ранено 32,5 тыс. человек, из них госпитализировано 12,5 тыс., 25 % от всех пострадавших составили дети. Свыше 530 тыс. человек лишились жилья. Спитак и Спитакский район, обслуживаемый СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб», оказались в эпицентре землетрясения.

Данное стихийное бедствие сопровождалось резким ухудшением эпидемиологической обстановки, обусловленным разрушением инфраструктуры здравоохранения (гибель персонала, разрушение производственных и жилых зданий, оборудования) и систем жизнеобеспечения населения (водопровод, канализация и очистные сооружения), активностью природных очагов чумы, туляремии, нарушением работы предприятий пищевой промышленности и торговли, возникновением психоэмоционального стресса у людей, миграцией населения из пораженных районов.

В зону землетрясения в Армении для восполнения утраченных в структурно-функциональном отношении местных служб госсанэпиднадзора и противозидемического обеспечения спасательно-восстановительных работ были выдвинуты СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб», Ростовского-на-Дону, Ставропольского и Волгоградского НИПЧИ.

На примере работы СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб», по данным А.М.Кокушкина и соавт. [5], в эпицентре землетрясения в г. Спитак и Спитакском районе показано, какие функциональные группы были образованы:

- группа анализа эпидемиологической обстановки (3 чел.),
- 8 подвижных эпидемиологических групп (врач и средний медработник)
- группы коммунальной и пищевой санитарии (в каждой – 1 врач и 1 средний медработник),
- зообригада (2 зоолога),
- лаборатория кишечных инфекций (4 врача, 4 лаборанта, 1 лаборант),
- лаборатория зоонозных инфекций (2 врача, 3 лаборанта, 2 дезинфектора),
- группа обеспечения из среднего, младшего медицинского персонала и техников (21 чел.).

Пять из восьми подвижных эпидемиологических групп ежедневно обследовали закрепленные за ними комендантские участки г. Спитак, а три – 20 населенных пунктов Спитакского района через день. Группы специалистов активно выявляли инфекционных больных, случаи педикулеза, производили забор проб питьевой воды, проводили учет временного и постоянного населения, пунктов общественного питания, а также мест скопления одичавших собак и захоронения животных. В задачи групп входила также раздача населению профилактических и лечебных препаратов, в ряде случаев – оказание медицинской помощи и доставка продовольствия.

В результате работы СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» по проведению комплекса противозидемиче-

ских, профилактических, санитарно-гигиенических мероприятий в течение 203 дней было обеспечено санитарно-эпидемиологическое благополучие населения и прикомандированных контингентов спасателей, строителей и силовых структур в Спитакском районе.

Полная функциональная нагрузка на СПЭБ при втором типе ЧС приведена на рис. 2.

Основным признаком второй типовой ситуации, приоритетной для применения СПЭБ, является масштабная кризисная ситуация в общественном здравоохранении, обусловленная стихийным бедствием, повлекшим резкое ухудшение прежде всего санитарно-гигиенической обстановки, возрастание рисков возникновения опасных инфекционных болезней, эндемичных и вследствие заноса извне, дезорганизацию местных структур здравоохранения, прежде всего в связи с масштабностью ЧС, а также с утратами структурно-функционального порядка.

Основным отличием структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ во второй ситуации является возрастание объемов санитарно-гигиенических, профилактических мероприятий, увеличение количества функций в связи с необходимостью нивелирования территориальных структурно-функциональных утрат, при необходимости осуществления функций, нормативно закрепленных за противочумными учреждениями, по взаимодействию с территориальными структурами здравоохранения. В настоящее время эти функции регламентированы приказами Роспотребнадзора [22, 23].

Сходная типовая ситуация для СПЭБ, описанная в монографиях Г.Г.Онищенко и соавт. [11, 12], возникла в зоне конфликтной ЧС в Чеченской Республике при проведении антитеррористических мероприятий. Эта ситуация потребовала мобилизации аналогичного спектра структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ.

Свежим примером работы СПЭБ в зоне нарастающей гуманитарной катастрофы служит деятельность СПЭБ Ставропольского НИПЧИ по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения в августе 2008 г. в Республике Южная Осетия.

СПЭБ выполняла свои функции в условиях сложной обстановки: беженцы составляли 80 % населения, полностью было разрушено 25 % жилого фонда, отсутствовали водоснабжение, снабжение населения продуктами питания, медицинское обслуживание и санитарно-эпидемиологическое обеспечение. Основными направлениями деятельности СПЭБ в этой ситуации являлись проведение профилактических мероприятий, восстановление функционирования учреждений санитарно-эпидемиологического надзора и обеспечение готовности лечебной сети. Профилактические мероприятия по предотвращению вспышек острых кишечных инфекций сводились прежде всего к активному выявлению инфекционных больных путем подворных обходов,

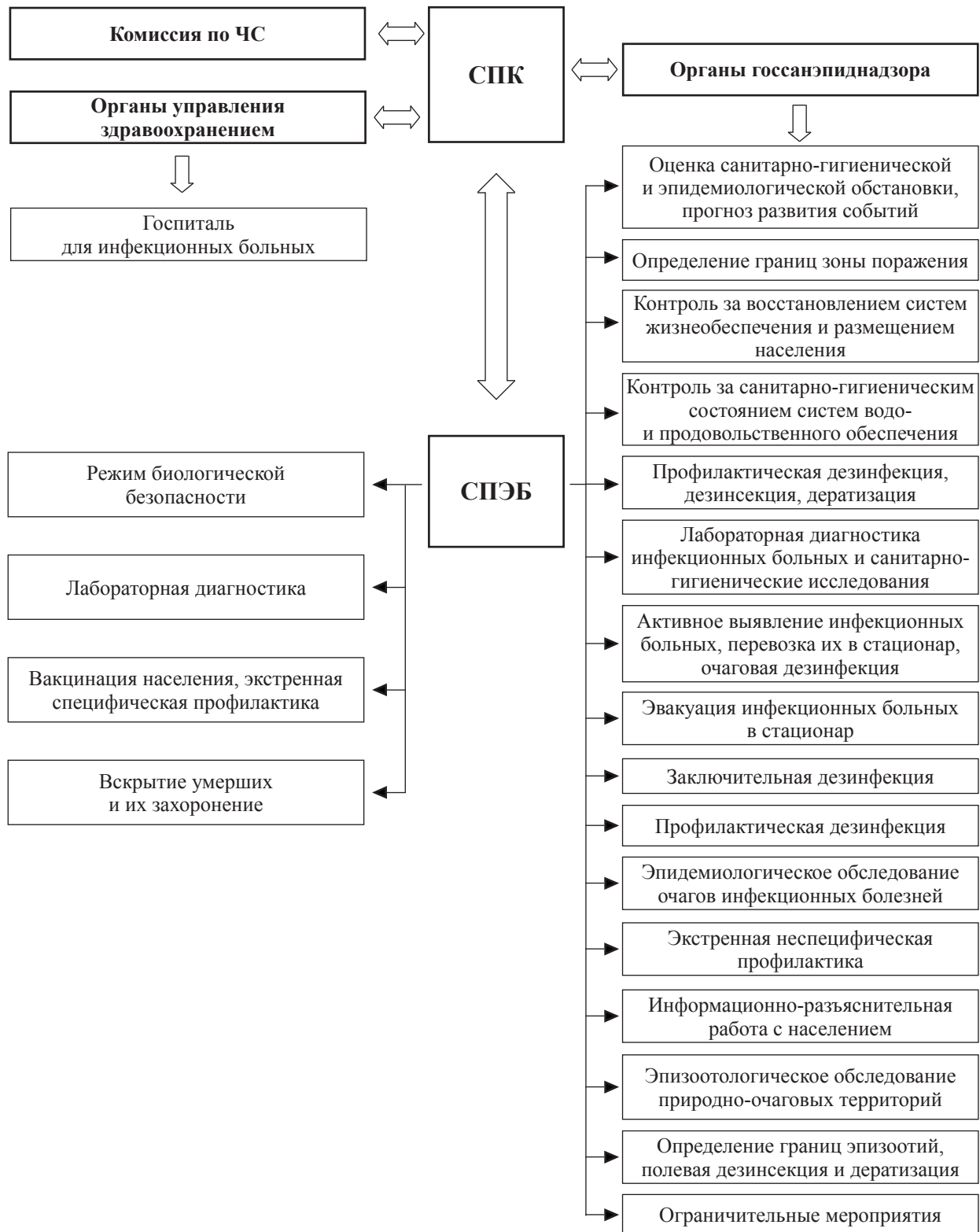


Рис. 2. Схема оказания помощи СПЭБ территориальным структурам здравоохранения при крупномасштабных инфраструктурных разрушениях в зонах стихийных бедствий

проведению информационно-разъяснительной работы и недопущению реализации водного и пищевого путей передачи кишечных инфекций. С 21 августа, с появлением больных кишечными инфекциями, осуществлялись мероприятия в эпидемических очагах, включая эпидемиологическое обследование, проведение текущей и заключительной дезинфекции,

лабораторное обследование и медицинское наблюдение в отношении контактных лиц. Систематически проводился анализ состояния систем централизованного и нецентрализованного водоснабжения, обеззараживание питьевой воды, контроль качества воды по микробиологическим показателям и остаточному хлору. Осуществлялся комплекс мероприятий в пун-

ктах питания населения, проводился контроль гуманитарной помощи, обследование предприятий общественного питания и пищевой промышленности. В рамках эпизоотологических мероприятий были обследованы на наличие грызунов открытые станции и помещения, проведена сплошная дератизация города Цхинвал.

Таким образом, основным итогом работы СПЭБ в Республике Южная Осетия стала помощь в обеспечении и сохранении санитарно-эпидемиологического благополучия населения, включая восстановление санитарного контроля качества водоснабжения города Цхинвал питьевой водой и возобновление в республике деятельности учреждений санитарно-эпидемиологического надзора и лечебной сети.

ЧС, связанные с работой СПЭБ в этих условиях, необходимо отнести ко второму типу ситуации, приоритетной для СПЭБ.

Применение СПЭБ в зоне гуманитарной катастрофы в рамках международных сил оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения, имеющие международное значение, представляется возможным прежде всего в лагерях беженцев и других местах концентрации мигрирующих контингентов, вне зоны боевых действий.

Третью типовую ситуацию по особенностям структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ необходимо рассмотреть на примере ликвидации локальных вспышек особо опасных инфекционных болезней.

В качестве примера такой ситуации можно привести опыт применения группы специалистов СПЭБ при расшифровке генеза эпидемической вспышки сибирской язвы в Республике Мордовия в июле 1999 г. [6].

Вспышка сибирской язвы среди людей (6 чел.) и эпизоотия среди сельскохозяйственных животных (55 голов) были зарегистрированы в с. Русское Баймаково Рузаевского района в июле 1999 г. Территориальными структурами здравоохранения диагноз сибирской язвы у людей поставлен лишь на основе клинико-эпидемиологического анализа. Культуры возбудителя сибирской язвы выделены только от сельскохозяйственных животных. Неясным был генез эпизоотии сибирской язвы, а следовательно эпидемической вспышки, выяснение которого было необходимым для целенаправленного осуществления противоэпизоотических, противоэпидемических и санитарно-профилактических мероприятий.

Оперативной группе СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб», прибывшей по заданию Минздрава России в составе 1 эпидемиолога и 2 микробиологов с комплектом мобильной ПЦР-диагностической лаборатории, потребовалось 2 дня, чтобы провести эпидемиологическое расследование, лабораторно подтвердить диагноз сибирской язвы у 4 больных людей и установить факторы, вызвавшие эпизоотию среди сельскохозяйственных животных. С помощью ПЦР-диагностики

установлено, что этими факторами оказались контаминированные возбудителем сибирской язвы поле, на котором осуществлялся выпас животных, и трава, скошенная с этого поля, использовавшаяся для откорма животных. Контаминирование поля произошло из расположенного в непосредственной близости скотомогильника.

Деятельность СПЭБ в данной ситуации при оказании помощи территориальным структурам здравоохранения представлена на рис. 3.

Основным признаком данной типовой ситуации является локальный характер вспышки особо опасной инфекционной болезни с неясными причинно-следственными связями, необходимыми для целенаправленного проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по ее ликвидации. Спектр структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ в такой ситуации при оказании помощи территориальным структурам здравоохранения в количественном отношении минимален. Но он принципиально важен для минимизации негативных социально-экономических последствий таких ЧС.

В данную схему типовой ситуации укладываются и примеры из опыта оказания помощи СПЭБ территориальным структурам здравоохранения при расшифровке генеза вспышек других особо опасных зоонозных и антропонозных инфекционных болезней. Из антропонозов примером может служить заносная вспышка холеры в Республике Татарстан в 2001 г., когда было зарегистрировано 52 больных и 18 вибрионосителей [14].

При заносе холеры в г. Казань посредством сточных вод был контаминирован искусственный водоем, расположенный в жилом комплексе и использовавшийся для несанкционированного купания, преимущественно детьми.

Оперативная группа СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» (2 эпидемиолога и 3 микробиолога) оказала помощь здравоохранению Казани в проведении эпидемиологического расследования, установлении этиологического агента, целенаправленной организации и осуществлении санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. В расшифровке данной вспышки на всех этапах важную роль играло применение специалистами СПЭБ ПЦР-диагностики.

Как можно видеть, структурно-функциональная нагрузка на СПЭБ (оперативную группу) здесь была аналогичной той, что и в Республике Мордовия при ликвидации вспышки зооноза – сибирской язвы. В ситуациях такого плана при оказании помощи территориальным структурам здравоохранения основную роль играют профессиональные качества эпидемиологов, микробиологов и вооруженность современными методами информационно-аналитического анализа и лабораторной диагностики противочумных учреждений и формируемых на их базе СПЭБ.

Представляется, что по третьему типу ситуации будет складываться спектр структурно-функциональ-

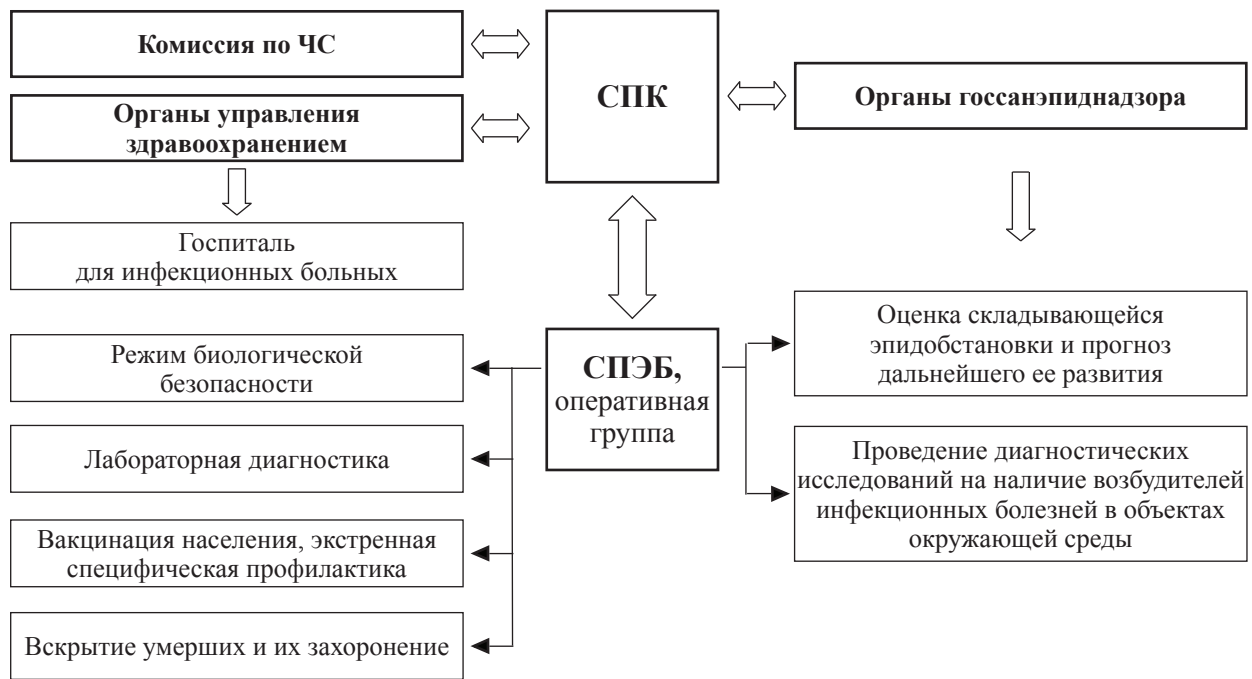


Рис. 3. Схема оказания помощи СПЭБ территориальным структурам здравоохранения при локальных эпидемических вспышках опасных инфекционных болезней

ной нагрузки на СПЭБ в случае возникновения ЧС, обусловленных проявлением инфекционных болезней неясной этиологии, а также вновь возникающими инфекционными болезнями.

Примером такой ситуации является выезд весной 2008 г. группы специалистов СПЭБ Ставропольского НИПЧИ в составе миссии ЕвроВОЗ в Республику Таджикистан. В рамках практической деятельности группа специалистов из состава СПЭБ участвовала в эпидемиологическом расследовании вспышек кишечных инфекций неустановленной этиологии. Было проведено обследование систем обеспечения населения питьевой водой, выполнено 117 лабораторных исследований на наличие возбудителей различных инфекций с помощью серологических и молекулярно-генетических методов экспресс-диагностики. В результате расшифрована этиология инфекционных болезней, имевших место на территории республики во время проявлений хронической водной эпидемии по ряду нозологических форм, связанной с употреблением для хозяйственно-бытовых нужд и питья некачественной воды. Даны рекомендации по санитарно-гигиеническому контролю вопросов, связанных с обеспечением населения водой, о необходимости усиления микробиологической лабораторной базы, включая подготовку кадров и решения вопросов вакцинопрофилактики в отношении гепатита А, лептоспироза, тифо-паратифозных инфекций.

Алгоритм оказания помощи территориальным структурам здравоохранения в Республике Таджикистан является аналогичным описанным выше ситуациям третьего типа.

Таким образом, дифференцировано три типа ситуаций, приоритетных для деятельности СПЭБ, а соответственно – обусловленные ими три типа структурно-функциональной нагрузки на СПЭБ.

В соответствии с вышеизложенным, при реализации организационных, эпидемиолого-диагностических, методических, исполнительских и контрольных функциональных направлений деятельности СПЭБ их тактика может строиться на варьировании личным составом (в полном составе, отдельные группы специалистов) и материально-техническими возможностями бригады (все функциональные модули, отдельные модули или их комбинации).

В совокупности СПЭБ в полном составе (все функциональные модули) может выполнять:

- индикацию возбудителей особо опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии в зависимости от вида материала (из объектов окружающей среды, клинический материал), вида возбудителя и методов исследования (до 500 проб и 3000 анализов в сутки на примере холеры);

- санитарно-микробиологические исследования объектов внешней среды, пищевых продуктов и др. до 100 проб и 500 анализов в сутки;

- эпидемиологическое обследование до 12–16 эпидемических очагов инфекций и до 8–12 эпидемиологически значимых объектов (предприятия общественного питания, коммунальные объекты, источники водоснабжения и пр.) в сутки.

Тактика применения СПЭБ в современных условиях, а именно выбор в оперативном режиме оптимальной структурно-функциональной, материально-технической, приборной, методологической и техно-

логической организации определяется конкретными критериями:

- характером и видом ЧС, объемом последствий, обусловленных их проявлением;
- материально-техническими и кадровыми возможностями территориальных структур в зоне ЧС, отвечающих за санитарно-эпидемиологическое благополучие населения;
- спектром функциональной нагрузки на СПЭБ, связанным с решением поставленных задач, номенклатурой и объемом специализированной помощи здравоохранению и населению в зоне ЧС;
- необходимостью автономного функционирования СПЭБ в зоне ЧС.

Чрезвычайные ситуации, приоритетные для деятельности СПЭБ в полном составе:

- эпидемии и вспышки инфекционных болезней, указанных в Международных медико-санитарных правилах (2005 г.) [9] и Санитарно-эпидемиологических правилах «Санитарная охрана территории Российской Федерации» СП 3.4.2318-08, в их числе – оспа, полиомиелит, вызванный диким полиовирусом, человеческий грипп, вызванный новым подтипом, тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), холера, чума, желтая лихорадка, лихорадка Ласса, болезнь, вызванная вирусом Марбург, болезнь, вызванная вирусом Эбола, малярия, лихорадка Западного Нила, Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Денге, лихорадка Рифт-Вали (долины Рифт), менингококковая болезнь и другие, прежде всего вновь возникающие нозологические формы, способные вызвать ЧС;

- стихийные бедствия (землетрясения, наводнения), сопряженные с повреждением санитарно-коммунальных систем, инфраструктур здравоохранения и угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения;

- гуманитарные катастрофы, связанные с перемещениями и концентрацией людских контингентов на ограниченных территориях в лагерях беженцев.

Чрезвычайные ситуации, приоритетные для деятельности СПЭБ в неполном составе (отдельные группы специалистов-экспертов, отдельные модули

или их комбинации):

- вспышки инфекционных болезней, не поддающиеся верификации на уровне местного здравоохранения, с тяжелым клиническим течением, высокой летальностью, тенденцией распространения;
- локальные вспышки особо опасных инфекционных болезней с широкой контаминацией окружающей среды и недостаточными возможностями местного здравоохранения по их верификации и ликвидации;
- акты преднамеренного применения биологических агентов.

Выработанная в Российской Федерации стратегия противоэпидемического обеспечения населения в рамках решений саммита стран «Группы восьми» (2006 г.) и реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) полностью учитывается при осуществлении мероприятий по модернизации специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) противочумных учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [13, 20, 25].

В плане научного сопровождения модернизации СПЭБ разработана концепция на основе модульного принципа структурно-функциональной организации и материально-технического укомплектования, определяющая тактику применения СПЭБ в современных условиях, которая учитывает варьирование нагрузки на СПЭБ, тактику их применения в целях оказания помощи территориальным структурам здравоохранения. Структурно-функциональная целостность СПЭБ не тождественна полному набору модулей и технических средств модернизированных СПЭБ. СПЭБ может выезжать и успешно решать поставленные задачи с привлечением территориальных ресурсов лабораторной сети, жилой инфраструктуры и автотранспорта (рис. 4, 5).

Противочумные учреждения и формируемые на их базе СПЭБ функционируют на экстерриториальной основе [23].

Принципиально важным является взаимодействие СПЭБ в зоне ЧС со службами других ведомств, что осуществимо в рамках деятельности межведом-



Рис. 4. Личный состав СПЭБ



Рис. 5. Лаборатория особо опасных инфекций

ственных санитарно-противоэпидемических комиссий (СПК) и Комиссий по чрезвычайным ситуациям. Это положение нашло отражение во всех трех схемах типовых ситуаций на рис. 1, 2 и 3. В зонах ЧС на территории Российской Федерации реально осуществлялось взаимодействие СПЭБ с подразделениями Минобороны, МВД, МЧС, ФСБ России и другими федеральными органами исполнительной власти. Традиционно это взаимодействие осуществляется при планировании, организации и проведении режимно-ограничительных (карантинных) мероприятий, и функция организации межведомственного взаимодействия играет весомую роль при использовании потенциала СПЭБ.

Нормативной основой межведомственного взаимодействия противочумных учреждений и СПЭБ в зоне ЧС на территории Российской Федерации являются Постановление Правительства Российской Федерации от 30.12.2003 г. № 794 «О единой государственной системе предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций» [18], а также Постановление Правительства РФ от 16 мая 2005 г. № 303 «О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации» [19].

На международном уровне актуальность межведомственного (межсекторального) взаимодействия декларируется Всемирной организацией здравоохранения как необходимое условие эффективного исполнения Международных медико-санитарных правил (2005 г.) при противодействии чрезвычайным ситуациям в области общественного здравоохранения, имеющим международное значение. На национальном уровне межведомственное взаимодействие – необходимое условие эффективного исполнения санитарно-эпидемиологических правил «Санитарная охрана территории Российской Федерации» СП 3.4.2318-08 [27], гармонизированных с ММСП (2005 г.), при противодействии чрезвычайным ситуациям в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Данное положение, проистекающее из опыта работы СПЭБ на национальном уровне, необходимо учитывать при определении тактики работы СПЭБ за рубежом.

Необходимо отметить особую роль полученного в 2008 г. международного опыта в работе СПЭБ, который позволил апробировать возможности модернизированной бригады в реальных условиях, подтвердил состоятельность положений постулируемых в научно-обоснованной концепции модернизации материально-технической базы и принципов функционирования СПЭБ на современном этапе, показал несомненную пользу рекомендаций специалистов ВОЗ в рамках совместной деятельности и вместе с тем обозначил ряд проблем, требующих решения в аспекте нормативно-правового сопровождения в отношении специалистов и имущества СПЭБ, привлекаемых к работе за рубежом.

Применение СПЭБ по оперативному реагированию на чрезвычайные ситуации, угрожающие санитарно-эпидемиологическому благополучию населения на международном уровне, может осуществляться после подготовки соответствующих соглашений в рамках международных объединений, в состав которых входит Российская Федерация (СНГ, ШОС и др.), в сотрудничестве с Всемирной организацией здравоохранения.

Таким образом, предлагаемая тактика применения СПЭБ на современном этапе в условиях ЧС как глобального, так и локального характера, является инструментом, позволяющим на качественно новом уровне оперативно реагировать на угрозы в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на территории Российской Федерации и за рубежом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В.Д., Дегтярев А.А., Иванников Ю.Г. Качество и эффективность противоэпидемических мероприятий. Л.: Медицина 1981. 303 с.
2. Безмертвый В.Е., Кюрегян А.А., Шестопалов И.М. и др. О роли специализированных противоэпидемических бригад противочумных учреждений в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения и мерах повышения их готовности. В кн.: Матер. VIII съезда Всерос. об-ва эпидемиол., микробиол. и паразитол. М.; 2002. Т. 2. С. 90–2
3. Громашевский Л.В. Механизмы передачи инфекций. Киев: Госмедиздат УССР; 1958. 332 с.
4. Заболотный Д.К. Избранные труды. Том I. Чума. Киев: АН УССР; 1956. 286 с.
5. Кокушкин А.М., Кологоров А.И., Бережнов А.З. и др. Профилактика инфекционных заболеваний в зоне стихийного бедствия. Природно-очаговые инфекции и их профилактика. Саратов. 1991. С. 148–55.
6. Кутырев В.В., Куличенко А.Н., Куклев Е.В. и др. Опыт использования генодиагностики в целях оптимизации эпидемиологического надзора за сибирской язвой. Эпидемиол. и инф. бол. 2000; 4:17–9.
7. Кутырев В.В., Федоров Ю.М., Топорков А.В. и др. Укрепление глобальной сети по предупреждению и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций: модернизация специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) противочумных учреждений. Probl. особо опасных инф. 2006; 2(92):10–4.
8. Ломов Ю.М., Мишанькин Б.Н., Москвитина Э.А. и др. Специализированные противоэпидемические бригады как составная часть Всероссийской службы медицины катастроф. Эпидемиол. и инф. бол. 1998; 6:11–6.
9. Международные медико-санитарные правила (2005 г.).
10. Ониценко Г.Г., Беляев Е.Н., Москвитина Э.А. и др. Холера в Дагестане: прошлое и настоящее. Ростов н/Д; 1995. 125 с.
11. Ониценко Г.Г., Гризбековский Г.М., Ефременко В.И. Проблемы эпидемиологической безопасности в регионе Южного Федерального округа России. М.; 2003. 448 с.
12. Ониценко Г.Г., Ефременко В.И., Гризбековский Г.М. Противоэпидемическое обеспечение населения в условиях вооруженного конфликта в Чеченской Республике. Ставрополь; 1996. 256 с.
13. Ониценко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М., Пакскина Н.Д., Топорков В.П. О реализации инициатив саммита «Группы восьми» в Санкт-Петербурге (15–17 июля 2006 г.) в области борьбы с инфекционными болезнями и Международных медико-санитарных правил (2005 г.) при осуществлении санитарной охраны территорий государств-участников Содружества Независимых Государств. В кн.: Матер. VIII Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ (25–26 сентября 2007 г., Саратов). Саратов, 2007. С. 9–12.
14. Ониценко Г.Г., Москвитина Э.А., Кологоров А.И. и др. Холера в Казани. Организация и проведение противохолерных мероприятий. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2002; 2:17–22.
15. Ониценко Г.Г., Топорков В.П., Прометной В.И. и др. Эпидемия холеры в некоторых горных районах Дагестана в связи с вероятной ролью водного фактора в ее распространении Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1995; 2:53–8.
16. Ониценко 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.

17. Организация и проведение работы специализированными противэпидемическими бригадами в чрезвычайных ситуациях. МУ 3.1.957-00. М.: Минздрав России; 2000. 53 с.

18. Постановление Правительства Российской Федерации от 30.12.2003 г. № 794 «О единой государственной системе предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций».

19. Постановление Правительства РФ от 16 мая 2005 г. № 303 «О разграничении полномочий федеральных органов исполнительной власти в области обеспечения биологической и химической безопасности Российской Федерации».

20. Приказ Роспотребнадзора от 20.07.07 г. № 225 «О совершенствовании организации работы специализированных противэпидемических бригад, сформированных на базе ФГУЗ «Научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора».

21. Приказ Роспотребнадзора от 22.11.2007 № 330 «О Регламенте функционирования СПЭБ».

22. Приказ Роспотребнадзора от 17 марта 2008 г. № 88 «О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней».

23. Приказ Роспотребнадзора от 8 мая 2008 г. № 152 «Об организации и проведении мероприятий по профилактике чумы».

24. Пухов Ю.М., Москвитина Э.А. Исследование функций и организационной структуры специализированной противэпидемической бригады противочумных учреждений с использованием системного подхода. Здоровье населения и среда обитания. 2007; 6(171):26–31.

25. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 21.05.2007 № 642-р о финансировании мероприятий по модернизации СПЭБ.

26. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 28 января 2008 г. № 74-р «Об утверждении Концепции федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

27. Санитарно-эпидемиологические правила «Санитарная охрана территории Российской Федерации» СП 3.4.2318-08.

28. Старишинов В.А., Карнаухов И.Г. Оптимизация работы специализированных противэпидемических формирований в чрезвычайных ситуациях. Пробл. особо опасных инф. 2003; 86:42–8.

29. Топорков А.В., Кутырев В.В., Топорков В.П., Старишинов В.А. Тактика применения специализированных противэпидемических бригад (СПЭБ) в современных условиях. В кн.: Матер. IX Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ (30 сентября – 2 октября 2008 г., Волгоград). Волгоград; 2008. С. 283–286.

30. Черкасский Б.Л. Системный подход в эпидемиологии.

М.: Медицина; 1988. 286 с.

31. Федоров Ю.М., Дроздов И.Г., Куклев Е.В., Старишинов В.А. Роль специализированных противэпидемических бригад противочумных учреждений Министерства здравоохранения Российской Федерации в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Здравоохранение. 2004; 4:17–24.

G.G.Onischenko, A.V.Toporkov, V.P.Toporkov, A.N.Koulichenko, V.V.Kutyrev

Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET): the Experience of Work and Tactics of their Employment in Modern Conditions

*Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer's Rights
Protection and Human Welfare; Russian Anti-Plague Research Institute
"Microbe", Saratov; Stavropol Anti-Plague Research Institute*

Structural and functional SAET variation while rendering assistance to the territorial health organizations (health care authorities and agencies authorized to execute state sanitary and epidemiologic surveillance) has been evaluated on the basis of the purposeful analysis of SAET work experience. Distinguished have been three types of situations that define priority need in SAETs and tactics of their employment for liquidation of emergencies in the sphere of population sanitary and epidemiological welfare at the national and international levels.

Key words: emergency, sanitary and epidemiological welfare, SAET, tactics, typical situations.

Об авторах:

Онищенко Г.Г. Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Москва.

Кутырев В.В. (директор), Топорков А.В. (зам. директора), Топорков В.П. (зав. лаб.). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 73-46-48. E-mail: microbe@san.ru

Куличенко А.Н. (директор). Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355135, Ставрополь, ул. Советская, д. 13/15. Тел.: (865-2) 26-03-12. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Поступила 18.11.08.

**А.С.Марамович, С.А.Косилко, Т.И.Иннокентьева, Г.А.Воронова, А.Я.Никитин,
Л.П.Базанова, Л.П.Окунев**

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЧУМЫ В ИНДИИ И ОБОСНОВАНИЕ МЕРОПРИЯТИЙ ПО САНИТАРНОЙ ОХРАНЕ ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

ФГУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

Дана оценка эпидемиологической обстановки по чуме в Индии в XX и начале XXI столетия. Показано волнообразное прерывистое течение эпидемического процесса, который разделен на период интенсивных ежегодных эпидемий, угасания эпидемической активности и внезапного возникновения острых вспышек на фоне отсутствия спорадической заболеваемости. Представлена краткая характеристика эпидемии легочной чумы в Индии в 1994 г. и предпринятых международных санитарно-охранных мероприятий на примере России и США. Доказательством периодически осложняющейся эпидемиологической ситуации в Индии служат локальные вспышки легочной и бубонной чумы в 2002 и 2004 гг. Направленность и объем мероприятий по санитарной охране территории обоснованы развитием торгово-экономических, туристических связей между Индией и Россией, включая субъекты Сибирского и Дальневосточного федеральных округов, различающиеся по степени опасности заноса чумы.

Ключевые слова: чума, эпидемия, Сибирь, Дальний Восток, Индия, природные очаги, санитарная охрана территории, международное сотрудничество.

Индия относится к тем странам Южной Азии, где чума по летописным и историческим описаниям принимала характер интенсивных эпидемий. Распространение этой грозной инфекции происходило во многие другие государства Азии, Африки и Европы, вызывая опустошения и гибель миллионов людей. Известно, что в первой половине XX века от чумы в Индии умерло около 12 млн человек [2]. А в течение всего прошедшего столетия заболело 13 млн из 14 зарегистрированных в мире [3, 5]. Отсутствие систематического учета больных и умерших обуславливало значительные расхождения в показателях заболеваемости и смертности, что существенно затрудняет оценку истинного состояния эпидемиологической ситуации в этой второй по численности населения стране мира (1,08 млрд человек), имеющей опосредованные связи с регионом Сибири и Дальнего Востока России.

Пути распространения чумы по различным странам и частям света неоднократно служили предметом научных дискуссий эпидемиологов, при этом предпочтение в качестве исходных пунктов движения инфекции отдавалось то Индии, то Китаю. Высокая плотность сельского населения в Индии, существование устойчивых природных очагов в непосредственной близости к крупным морским портам международного значения, возникновение в них эксплозивных эпидемий способствовали выносу инфекции за пределы страны. Из Индии различными видами транспортных средств чуму вывозили 23 раза, т.е. в 30,7 % случаев из 75 установленных.

С 30-х годов прошлого столетия и до настоящего времени для чумы в этой стране характерно волнообразное, прерывистое течение эпидемического процесса, который условно можно разделить на 3 пе-

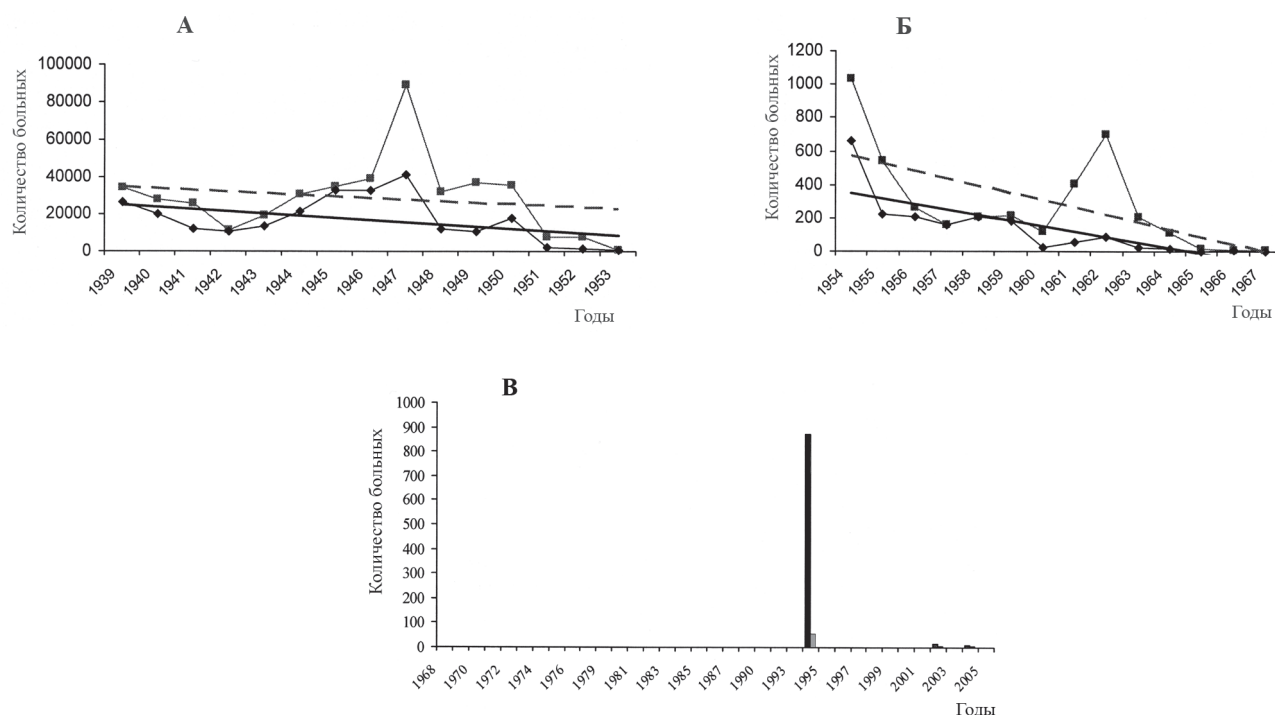
риода: интенсивных ежегодных эпидемий, угасания эпидемической активности и внезапного возникновения острых вспышек, значительно разделенных во времени на фоне отсутствия спорадической заболеваемости (рисунок).

На протяжении 14 лет первого периода зарегистрировано 461875 больных чумой. Летальность составила вначале 80–90 %, затем снизилась к 1953 г. до 13–17 %, что обусловлено прежде всего внедрением в лечебную практику антибиотических препаратов. Высокая заболеваемость чумой до 1950 г. была связана с чрезвычайно низким уровнем жизни в стране.

Только в Бенгалии за 1943 г. погибли от голода и связанных с ним болезней 3,5 млн человек [6]. В 1947 г. военные конфликты еще более усугубили положение в стране, и в этот год зарегистрирован подъем заболеваемости чумой (рисунок).

Подъемы и спады заболеваемости чумой в Азии в значительной степени зависели от динамики эпидемических проявлений этой инфекции в Индии. Так, в 1950–1952 гг. более 65 % заболеваемости чумой в мире приходилось на больных, зарегистрированных в Индии. В 1955–1964 гг. этот показатель составил 30–40 %, за исключением 1957 г., когда заболеваемость снизилась до 22,5–24 %. В 1961–1962 гг. отмечен подъем заболеваемости за счет вспышки в штате Майсур. С 1964 г. наметился стойкий спад чумы в Индии и на ее долю приходилось лишь 7,2 % мировых показателей, а с 1968 г. эту инфекцию уже не выявляли [13].

В результате многолетних исследований индийских ученых установлено, что интенсивность распространения чумы зависела от численности крыс в эпидемическом очаге. Эпидемиям чумы предшествовал массовый падеж крыс, и люди заражались через



Динамика эпидемических проявлений чумы в Индии:

А – первый период (1939–1953 гг.), Б – второй период (1954–1967 гг.):
 ■ – больные; ◆ – умершие; — — — линейный (больные); — — — линейный (умершие)
 В – третий период (1968–2004 гг.): ■ – больные; ◆ – умершие

укусы крысиных блох, оставшихся без естественного прокормителя [25]. Эпизоотии среди этих животных продолжались непрерывно с определенными сезонными колебаниями в течение ряда лет, пока не исчезали все чувствительные особи, сохранялись только резистентные. Приведенные закономерности основываются на широком изучении восприимчивости и чувствительности крыс к возбудителю чумы в различных регионах Индии. Оказалось, что в уязвимых районах, где свирепствовали жестокие разливы эпидемии чумы, процент чувствительных к чумному микробу крыс был существенно меньше, чем в местностях, где возникали ограниченные эпидемические осложнения [16].

Основные природные очаги в Индии находятся в северной, центральной и южной частях страны, приурочены к умеренно влажным биотопам, расположенным в подгорных областях и на плоскогорьях на высоте от 610 до 1200 м над уровнем моря [11], где циркулирует чумной микроб океанического эколого-географического варианта, вирулентный для лабораторных и диких животных. Эндемичные зоны представлены как обширные территории, в которых чума присутствовала постоянно, распространяясь от одной территории к другой. Резервуаром инфекции служили не синантропные, а дикие грызуны, преимущественно индийские песчанки (*Tatera indica*), обитающие на полях и в других природных биотопах. Данному виду принадлежит роль основного носителя инфекции, его чувствительность к возбудителю чумы в южной Индии оказалась достаточно высокой

по сравнению с северными провинциями [15, 17, 22]. Следует иметь в виду, что мясо этих широко распространенных мелких млекопитающих употребляется в пищу беднейшими слоями населения, и заражение происходит при снятии шкурки убитого животного или при непосредственном контакте с кровью и органами павших *T. indica*.

Сезонность чумы в значительной степени определялась характерной периодичностью сельскохозяйственных работ, фенологией носителей и переносчиков, связанной со сменой сухих и дождливых периодов года. С началом жары (март–май) полевые грызуны укрываются в норах, и их передвижение в поисках пищи становится ограниченным. Заражение людей вследствие прямого контакта с полевыми грызунами в это время значительно сокращается, но если инфекция проникает в популяцию домовых грызунов, то уровень заболеваемости повышается и определяется периодом максимальной численности блох рода *Xenopsylla*.

Повсеместное проведение дезинсекционных мероприятий по борьбе с малярийными комарами оказалось весьма эффективным для значительного снижения численности блох по сравнению с контрольными участками [7]. Тем не менее, заключение индийских специалистов о ведущей роли синантропных грызунов в эпизоотологии и эпидемиологии чумы в определенной степени препятствует построению теории природной очаговости этой инфекции. Возникают традиционные, но закономерные вопросы о месте и механизме сохранения

возбудителя болезни после 1968 г.

Положение усугубляется тем, что в 1994 г. на фоне 26-летнего официального отсутствия регистрации чумы совершенно неожиданно для ученых и медицинских работников возникла острая эпидемическая вспышка, нанесящая Индии значительный экономический ущерб (1,7 млрд долларов США). Следует отметить, что до 1980 г. эпизоотологический надзор в стране предусматривал исследование грызунов бактериологическим и серологическим методами. Тестирование сывороток крови 133668 мелких млекопитающих в 1983–1988 гг. дало отрицательные результаты. В то же время с 1989 по сентябрь 1994 года у 131 зверька трех видов (*T. indica*, *R. rattus*, *B. bengalensis*) обнаружены антитела к фракции 1 чумного микроба [3]. Лабораторно подтвержденные случаи чумы были выявлены в 1966 г. в штате Карнатака. В штате Химачал Прадеш в 1969 и 1971 гг. у ряда обследованных людей отмечены положительные серологические находки, а от одной крысы выделен чумной микроб [21]. Несколько подозрительных вспышек было установлено в исторически эндемичных провинциях этого же штата в 1983 г., где из 22 больных с клиническими признаками легочной чумы 17 умерли без бактериологических подтверждений диагноза [5]. Приведенные фактические данные свидетельствуют о неустойчивой эпидемиологической обстановке по чуме, низком уровне эпидемиологического надзора за этой инфекцией, на фоне которых началась эпидемия бубонной чумы, перешедшая в легочную вследствие включения воздушно-капельного механизма передачи возбудителя болезни (рисунок).

Главное заключается в том, что эпицентром первичных эпидемических событий, охватившем одновременно 15 деревень, служил округ Бид в штате Махараштра, известный как истинный природный очаг, на территории которого вследствие благоприятных климатических условий *Y. pestis* способна сохраняться длительный период. Происшедшее в этом округе в 1993 г. землетрясение вынудило людей переселиться из разрушенных жилищ во временные, оставив под развалинами значительные запасы зерна, послужившие избыточным источником кормов для мелких млекопитающих, что привело к резкому (более чем в 2 раза) возрастанию численности синантропных грызунов и специфических блох, которые оказались устойчивыми к применяемым инсектицидам. Низкая эффективность дезинсекционных мероприятий, преобладание легких и стертых форм клинического течения бубонной чумы преимущественно среди фермеров и наемных сельскохозяйственных рабочих свидетельствовали о реализации трансмиссивного пути заражения слабовирулентными штаммами чумного микроба, что было доказано результатами их экспериментального изучения на лабораторных животных [4]. Трудности клинической диагностики чумы на фоне высокого уровня заболеваемости другими инфекциями при отсутствии бактериологических исследований на ранних этапах вспышки спо-

собствовали быстрому нарастанию эпидемического потенциала очага и дальнейшему распространению болезни на соседние территории вплоть до международного морского порта Бомбея.

Вначале пострадали жители двухмиллионного г. Сурат в соседнем штате Гуджарат, где скоропостижная смерть первых больных с характерными клиническими симптомами легочной чумы (включая пневмонию, не поддающуюся лечению пенициллином) вызвала закономерную панику у населения, сопровождающуюся не только массовым уходом горожан, но и побегом больных из лечебных учреждений. Эпидемическая ситуация усугублялась отсутствием госпитализации и лечения заболевших среди бедняков, четкой регистрации смертельных исходов и строгого контроля за погребением умерших в районах трущоб [28]. Санитарное состояние трущоб характеризовалось наличием открытых канализационных коллекторов, скученными жилищами, сделанными из глины или пластмассовых пластин, скоплением различных отходов и куч всевозможного мусора в оврагах и на берегах рек, создававших исключительно благоприятные условия для размножения крыс, истребление которых запрещено по религиозным традициям индуизма.

Изоляция зоны эпидемии от остальной части города сдерживалась необходимостью доставки рабочих на алмазоперерабатывающие фабрики промышленного центра и запланированного приема большого количества курортников и международных туристов, приносящих существенный доход в муниципальный бюджет. Антибиотики широкого спектра действия применяли ограниченно вследствие быстрого истощения их запасов из-за массовой закупки препаратов без рецептов, повышения цен на черном рынке, что делало их недоступными для значительной части населения [28].

Вспышка в г. Сурат носила взрывной характер за счет быстрого распространения легочной чумы, сопровождавшейся достаточно высокой летальностью (48 %), что оказалось совершенно неожиданным для медицинской службы и властных структур города, вынужденных скрывать истинную эпидемическую ситуацию [1, 5, 18]. Основные диагностические лаборатории были слабо оснащены, многие стационары не имели боксов для госпитализации подозрительных больных. В результате этого очаги чумы возникали не только на прилегающих, но и в отдаленных провинциях. О подозрительных случаях легочной чумы и обусловленных ею летальных исходах сообщали из городов Калькутта, Нью-Дели – крупных международных транспортных узлов. По материалам Национального института инфекционных заболеваний, антитела к возбудителю чумы в диагностических титрах были выявлены у лиц из 36 районов 5 штатов. Это явилось основанием для запрещения сопредельными странами прибытия из Индии авиалайнеров и морских судов [10, 18].

В такой сложной эпидемиологической обстановке

новке функционирование прямых чартерных рейсов через международные аэропорты Сибири и Дальнего Востока в Индию создавало реальную угрозу заноса чумы. Выполнение Постановления Правительства РФ о введении ограничительных мероприятий в отношении лиц, прибывающих из Индии, потребовало оперативного развертывания обсерваторов, что на практике оказалось трудно выполнимым. В то же время в международных аэропортах стран СНГ (Ташкент) обсервация не вводилась, и транзитные пассажиры, совершавшие пересадку, сразу же следовали в пункты назначения через внутренние аэропорты субъектов РФ без уведомления руководства авиапредприятия. Санитарно-эпидемиологическая служба была вынуждена принять экстренные меры по изоляции группы индийских граждан, среди которых обнаружен больной с острой лихорадкой неясной этиологии, и организовать медицинское наблюдение за членами экипажа и пассажирами этого рейса по месту жительства. В другом случае гражданка России, по возвращению из коммерческой поездки в Индию, обратилась за медицинской помощью и с тяжелой пневмонией госпитализирована в специализированное учреждение вблизи Новосибирска. Мероприятия в подозрительном очаге проводились до получения окончательного отрицательного результата бактериологического исследования [10].

Тактика превентивных мероприятий в США в этот период основывалась на сборе и анализе информации в Национальном центре по контролю за инфекционными болезнями (CDC) и была направлена на широкомасштабное просвещение населения, объединение усилий всех контрольных служб международных аэропортов, персонала транспортных компаний на обнаружение подозрительных больных среди пассажиров, прибывающих из Индии. Международным путешественникам вручались буклеты-рекомендации по мерам личной безопасности. В обязанности медицинских работников всех лечебных учреждений вменялось выявление больных со специфическим симптомокомплексом и соответствующим эпиданамнезом. Примененная система надзора в течение 30 дней позволила выявить 13 подозрительных случаев (6 – в аэропортах, 7 – на приеме у врача), но при дальнейшем клинико-лабораторном исследовании диагноз чумы был исключен и установлены малярия (2), лихорадка Денге в сочетании с малярией (1), брюшной тиф (1), печеночная кома (1), синдром вирусной лихорадки с летальным исходом (4), у четырех пострадавших этиология болезни осталась неясной [18].

Следует отметить, что ни одного заболевания легочной чумой за пределами Индии не выявлено. Причины этого, по-видимому, кроются прежде всего в том, что больные чумой регистрировались среди жителей трущоб, которые вряд ли могли совершать международные путешествия. Кроме того, короткий инкубационный период и тяжесть клинических проявлений при этой форме болезни ограничивают и реальную возможность вторичной передачи ин-

фекции. Приведенные фактические материалы не дают оснований отрицать эпидемию чумы в Индии в 1994 г. Подобная дискуссия [20] после детального обсуждения уроков вспышки чумы в Индии на межрегиональном совещании в г. Дели, ретроспективно и объективно оценившем чрезвычайную эпидемическую ситуацию в стране, представляется малоубедительной и конъюнктурной. Результаты исследования штаммов чумного микроба от больных в г. Сурат, осуществленных группой ведущих микробиологов Индии при участии специалистов CDC (США), свидетельствуют о принадлежности их к *Yersinia pestis* по культурально-морфологическим, биохимическим тестам, лизису специфическим бактериофагом и молекулярно-генетическим характеристикам [27]. По данным Shivaji S. *et al.* [26], восемнадцать изолятов, полученных из мокроты больных легочной чумой, секционного материала, из органов грызунов, отловленных в округе Бид и в г. Сурат в 1994 г., подтверждены как *Y. pestis*. Объективный анализ изложенных материалов позволяет считать реальным первоначальное заражение людей в природном очаге с последующим антропонозным характером распространения чумы.

Доказательством периодически меняющейся эпидемиологической обстановки в Индии служит возникновение в феврале 2002 г. вспышки легочной чумы в округе Шимла штата Химчал-Прадеш (рисунок). Первым заболевшим оказался мужчина, вернувшийся с охоты, вокруг которого заразилось 13 контактировавших родственников и двое из обслуживающего персонала больницы. В 4 случаях болезнь закончилась летально. Диагноз чумы у 10 из 16 заболевших подтвержден бактериологическим, серологическим методами и ПЦР [19, 24].

Спустя два года локальная вспышка бубонной чумы, сходная по эпидемиологическим параметрам, произошла в селении Дангуд округа Уттар-Каши (рисунок). Пораженными оказались лица обоих полов в возрасте 23–70 лет. *Y. pestis* удалось изолировать от *R. rattus* и *M. musculus*, отловленных в деревне. В результате исследования парных сывороток у трех больных выявлено 4-кратное нарастание титров антител к F1 чумного микроба. Трое из восьми заболевших умерли в течение 48 ч. Применение экстренной профилактики тетрациклином среди жителей трех соседних деревень позволило ликвидировать вспышку в течение двух недель [23].

Следовательно, эпидемические проявления чумы в Индии в конце XX и начале XXI столетий свидетельствуют о сохраняющейся взаимосвязи между прерывистым течением эпизоотий и внезапным возникновением эпидемических осложнений. Полученные в последние годы данные о возможности существования некультивируемых форм *Y. pestis* в одноклеточных организмах почвенного экотопы и роли биопленок в длительном выживании возбудителя значительно расширяют наши представления о сложном механизме энзоотии чумы [9, 12, 14].

Новые методические подходы в изучении закономерностей эпизоотологии и эпидемиологии чумы могут оказаться весьма полезными для повышения эффективности эпидемиологического мониторинга и целенаправленного планирования объема санитарно-охранных мероприятий. В этом аспекте особое значение приобретает все более растущий и углубляющийся интерес России и Индии к установлению торгово-экономических связей на долгосрочной основе.

Индия сегодня располагает развитой гражданской авиацией, разветвленной сетью железных и автомобильных дорог, характеризуется как морская держава с 736 судами торгового флота общей вместимостью 6,5 млн тонн.

Между Россией и Индией достигнута взаимовыгодная договоренность о беспрепятственном пролете самолетов над территорией двух стран. Красноярские специалисты активно изучают рынки Южной и Юго-Восточной Азии, и возможно, в ближайшее время появится новый прямой авиарейс «Нью-Дели-Красноярск». В рамках Южно-Азиатской организации межрегионального сотрудничества (SAARG) страны-участницы заключили соглашение о строительстве сквозного железнодорожного пути Узбекистан – Индия.

За последние два года в Индии отмечен трехкратный рост туризма. Доходы от этой отрасли составили 5,7 млрд долларов США, что на 20 % больше в сравнении с предыдущими годами. Индию посетили почти 4 млн иностранных гостей. В целом Азиатско-Тихоокеанский регион, включающий Индию и Китай, становится мировым лидером по росту индустрии туризма. Страна расположена в центре дуги, которая тянется от Западной Азии и Персидского залива до Центральной Азии и Тихого океана. Из Дели и Бомбея за 2–3 ч можно достичь крупных административных центров большинства стран региона.

Поэтому мероприятия по санитарной охране территории Сибири и Дальнего Востока должны планироваться с учетом опосредованных связей с республиками Средней Азии, а также наличия прямых коммерческих авиарейсов с Индией. Определенный комплекс противоэпидемических и профилактических мероприятий необходимо предусматривать и на морских судах, направляющихся в дальневосточные порты России, несмотря на длительные сроки плавания.

На уровне субъектов Сибири и Дальнего Востока особое требование к выполнению правил по санитарной охране следует предъявлять к административным территориям с международными портами, аэропортами, наземными транспортными железнодорожными, автомобильными узлами в связи с повышенным риском заноса особо опасной инфекции, представляющей чрезвычайную ситуацию в свете ММСП (2005 г.). Правильная эпидемиологическая диагностика и быстрая ликвидация такого рода осложнений на практике существенно затруднены. Возникает

необходимость проведения целенаправленных мероприятий, предотвращающих дальнейшее распространение инфекции и связанный с ним социальный и экономический ущерб. Понятно, что для реализации этих объемных и затратных мероприятий потребуются не менее 3–4 первых дней для выполнения лабораторных исследований, позволяющих окончательно установить статус эпидемического очага или снять подозрение о его формировании. Неоценимую помощь эпидемиологу, инфекционисту и бактериологу оказывают методы экспресс-диагностики (ПЦР, ИФА, МФА), используемые не только для обследования больного и контактировавших, но и при ориентировочном определении границ опасной территории.

В зависимости от степени угрозы заноса чумы из-за рубежа муниципальные образования целесообразно разделить по уровню вероятного проникновения инфекции (высокий, средний и низкий) на основе особенностей географического расположения, интенсивности и направленности международных торгово-экономических, туристических связей, с учетом конкретных природно-климатических, санитарно-гигиенических условий, которые могут способствовать распространению болезни в случае ее завоза. Комплексный план по санитарной охране территории в полном объеме вводится в действие немедленно не только при состоявшемся заносе, но и при получении информации о возникновении чумы в сопредельных странах. На этом этапе приводится в состояние повышенной готовности общая медицинская сеть, госпитальная база, специализированные противоэпидемические учреждения, лабораторная служба для экстренного проведения комплекса эффективных мероприятий по локализации и ликвидации очага. В целом необходима разумная эпидемиологическая настороженность по отношению к потенциальной опасности заноса чумы в регион Сибири и Дальнего Востока с учетом объективной оценки эпидемической ситуации и ее прогноза в Индии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арутюнов Ю.И., Москвитина Э.А., Мишанькин Б.Н. Уроки эпидемии чумы в Индии. Эпидемиол. и инф. болезни. 2004; 1:12–8.
2. Бароян О.В. Мировое распространение чумы в XX столетии. Журн. микробиол. 1957; 6:130–7.
3. Брюханова Г.Д. Актуальные аспекты эпидемиологии и микробиологии чумы в современных условиях [автореф. дис. ... д-ра мед. наук]. Ставрополь; 2004. 49 с.
4. Брюханова Г.Д., Жаринова Н.В., Грижебовский Г.М. и др. Характеристика штаммов чумного микроба, выделенных в Индии в 1994 г. Сообщение 3. Вирулентность для лабораторных животных и способность к формированию блока преджелудка у эффективных переносчиков. В кн.: Актуальные вопросы профилактики, особо опасных и других инф. забол. Ставрополь; 1995. С. 101–3.
5. Грижебовский Г.М., Топорков В.П., Брюханова Г.Д. и др. Эпидемиологическая характеристика вспышки чумы в Индии в 1994 г. Пробл. особо опасных инф. 2003; 5:28–37.
6. Душин М.С. Голод в 1943–1950 годы. По Афганистану, Пакистану, Индии. М.: Гос. изд-во географич. л-ры; 1954. С. 268–71.
7. Козлов М.П., Султанов Г.В. Эпидемические проявления чумы в прошлом и настоящем. Махачкала: Дагкнигоиздат; 1993. 336 с.
8. Кокушкин А.М. Социальные и биологические аспекты эпидемиологии чумы [автореф. дис. ... д-ра мед. наук]. Саратов;

1995. 46 с.

9. Литвин В.Ю. Сапронозные аспекты энзоотии чумы. Успехи современной биологии. 2003; 123(6):543–51.

10. Онищенко Г.Г., Черкасский Б.Л., Садовникова В.Н., Кюрегян А.А. Организация экстренных мероприятий по профилактике заноса чумы в Россию. Эпидемиол. и инф. бол. 1996; 3:17–21.

11. Попов Н.В., Куклев Е.В., Слудский А.А. и др. Ландшафтная приуроченность и биоценотическая структура природных очагов чумы дальнего зарубежья. Северная и Южная Америка, Африка, Азия. Пробл. особо опасных инф. 2005; 1(89):9–15.

12. Попов Н.В., Слудский А.А., Удовиков А.И. и др. К роли нематод (*Secernentea rhabdidae*) – паразитов блох в энзоотии чумы. Энтомол. и паразитол. исследования в Поволжье. Сб. науч. тр. Саратов: Изд-во Саратов ун-та; 2006. Вып. 5. С. 88–93.

13. Суворова А.Е., Акиев А.К. Современное распространение чумы в некоторых зарубежных странах. Пробл. особо опасных инф. 1973; 6:10–5.

14. Сунотницкий М.В., Сунотницкая Н.С. Очерки истории чумы. М.: 2006. 1164 с.

15. Baltazard M., Bahmanyar M. Research on plague in India. (Conclusions). WHO. Plague, 1958; 46:86–92.

16. Blanc G. La disparition de la peste et ses causes épidémiologiques. Semaines hôpitaux Paris. 1961; 2(37):105–10.

17. Chandras R.K., Krishnaswami A.K., Rao C.K. Study of the plague epidemiology at south India in natural plague focus. Ind. J. Med. Res. 1974; 7(62):1089–103.

18. Fritz C.L., Dennis D.T., Tappe M.A. et al. Surveillance for pneumonic plague in United States during an international emergency: a model for control of imported emerging diseases. Emerg. Infect. Dis. 1996; 1(2):30–6.

19. Gani R., Leach S. Epidemiologic determinants for modeling pneumonic plague outbreaks. Emerg. Infect. Dis. 2004; 10:608–14.

20. Jayaraman K.S. Was it really the plague in Surat? <http://www.tribuneindia.com/2000/20000525>.

21. Krishnaswami A.K., Rade C.K., Chandranas R.K. et al. Investigations on plague foci in Mahasu District of Himachal Pradesh. Ind. Med. Res. 1972; 8(60):1126–31.

22. Krishnaswami A.K., Krishnamurthy B.S., Roy S.N. et al. Study of plague at Kolar Region (Mysore State). Ind. J. Malariol. 1963; 2/3(17):179–214.

23. Mittal V., Rana U.V., Jain S.K., Kumar K. et al. Quick control of bubonic plague outbreak in Uttar Kashi, India. J. Commun. Dis. 2004; 36(4):233–39.

24. Paltrinieri S., Spagnolo V., Giordano A. et al. Pulmonary plague, Northern India, 2002. Emerg. Infect. Dis. 2007; 4(13):664–6.

25. Seal S.C., Bose P.N. Plague in Gauhati. Ind. J. Pub. Health. 1957; 1(2):119–22.

26. Shivaji S., Bhanu N.V., Aggarwal R.K. Identification of

Yersinia pestis as the causative organism of plague in India as determined by 16S rDNA sequencing and RAPD-based genomic fingerprinting. FEMS Microbiol. Lett. 2000; 189(2):247–52.

27. Titball R.W., Leary S.E.C. Plague. Brit. Med. Bull. 1998; 3(54):625–33.

28. Tysmans J.B. Plague in India 1994. Conditions, containment, goals. Carolina Papers in Intern. Health and Development. 1996. 14 p.

29. Velimirovic B. Special article: Plague in South-East Asia (A brief historical summary and present geographical distribution). Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 1972; 3(66):479–504.

A.S.Maramovich, S.A.Kosilko, T.I.Innokentieva, G.A.Voronova,
A.Ya.Nikitin, L.P.Basanova, L.P.Okunev

Epidemiological Regularities of Plague in India and Substantiation of Measures on Sanitary Protection of Siberia and Far East Territories

Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East

Plague epidemiological situation in India in XX and at the beginning of XXI century is evaluated. The epidemic process is shown to have wavy interrupted course and is divided into periods of annual intensive epidemics, reduction of epidemic activity and sudden development of acute outbreaks on the background of sporadic morbidity absence. Brief characterization of a pulmonary plague epidemic in India in 1994 and undertaken international sanitary and protective measures by the example of Russian Federation and USA is presented. Local outbreaks of pulmonary and bubonic plague in 2002–2004 give evidence of periodically complicated epidemic situation in India. Trend and volume of measures on sanitary protection of territories are substantiated by development of commercial, economical, tourist communications between India and Russia including Regions of Siberian and Far Eastern Federal Districts differing by the degree of plague importation risk.

Key words: plague, epidemic, Siberia, the Far East, India, natural foci, sanitary protection of territory, international cooperation.

Об авторах:

Марамович А.С. (зав. отд.), Косилко С.А. (с.н.с.), Иннокентьева Т.И. (зам. директора), Воронова Г.А. (с.н.с.), Никитин А.Я. (вед.н.с.), Базанова Л.П. (н.с.), Окунев Л.П. (н.с.). Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. 664047, Иркутск ул. Трилиссера, 78. Тел.: (395-2)-22-01-43. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Поступила 29.08.08.

А.Я.Никитин¹, С.В.Балахонов¹, Е.И.Андаев¹, Т.Г.Хазова², Г.А.Евтушок², Л.И.Козловский³,
Е.В.Иванова³

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО КЛЕЩЕВОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ, ЕЕ ПРОГНОЗ И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В РЕГИОНАХ СИБИРИ

¹ФГУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»;

²ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае»;

³ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области»

Анализ многолетней динамики заболеваемости населения клещевым энцефалитом (КЭ), обилия таежного клеща, количества укусов жителей городов, вирусофорности имаго выявляет цикличность в изменении всех показателей и позволяет прогнозировать ухудшение эпидемиологической обстановки в Сибири по этой инфекции в 2009–2010 гг. Исходя из анализа причин повышенной эпидемиологической опасности района, наличия микстинфицированности клещей, социальной структуры проживающего населения, необходимо для зон наибольшего риска заражения людей КЭ разработать планы оптимального сочетания мер специфической и неспецифической профилактики.

Ключевые слова: таежный клещ, клещевой энцефалит, эпидемиологическая обстановка, Сибирский федеральный округ, обилие имаго, вирусофорность, укусы населения, специфическая и неспецифическая профилактика.

Актуальность проблемы заболеваемости населения клещевым энцефалитом (КЭ) для Сибирского федерального округа определяется широтой нозоареала инфекции, преимущественным поражением взрослых работоспособных жителей городов и наличием летальных случаев среди заболевших. Так, за 2006–2007 гг. на территории Иркутской, Новосибирской областей (Восточная и Западная Сибирь соответственно) и Красноярского края (Центральная Сибирь) погибло 28 человек. Неблагоприятная эпидемиологическая по КЭ обстановка усугубляется тем, что основным переносчик вируса КЭ – таежный клещ (*Ixodes persulcatus* Schulze, 1930) служит резервуаром и вектором для ряда видов боррелий и риккетсий, что приводит к формированию сочетанных природных очагов [5, 9, 13, 15]. Как следствие, в последние годы ежегодная заболеваемость клещевыми боррелиозами в Красноярском крае составляет примерно половину, а в Иркутской и Новосибирской областях даже выше этого показателя по КЭ. Если учесть, что подходы к специфической профилактике и лечению этих трансмиссивных болезней не совпадают, то становится очевидна необходимость совершенствования мер ранней диагностики, а также неспецифической профилактики, в том числе индивидуальной защиты людей от присасывания клещей.

Анализ динамики заболеваемости КЭ в Сибирском федеральном округе за последние двадцать лет [5, 7–9, 13, 15] подтверждает сохранение напряженной эпидемиологической обстановки (рис. 1). За рассматриваемый период времени средний уровень заболеваемости в расчете на 100 тыс. населения составил для Красноярского края, Новосибирской и Иркутской областей $27,3 \pm 2,35$, $11,3 \pm 0,97$, $8,6 \pm 1,00$ соответственно. Причиной наблюдавшегося с 80-х годов XX века роста заболеваемости населения КЭ (рис. 1) является увеличение контактов населения с

природными биотопами на фоне возрастания численности имаго таежного клеща (рис. 2). Кроме того, изменение социально-экономических условий вызвало увеличение количества транспортных средств, миграции населения, расширение рекреационных зон городов. Интегрированным отражением этих тенденций явилось резкое возрастание числа укусов населения (рис. 2), отмеченное исследователями на разных участках нозоареала КЭ [5, 7, 13]. Как следствие, основная часть заболеваний КЭ приходится на людей, подвергшихся нападению клещей в пригородах крупных городов и профессионально не связанных с работой в лесу. В структуре заболеваемости КЭ повсеместно отмечено возрастание доли пенсионеров. В то же время число больных КЭ детей до 14 лет постепенно снижается [13, 15], так как для их весенне-летнего отдыха характерно преобладание организованных форм в оздоровительных лагерях, территории которых обрабатываются акарицидами, а в случае присасывания клещей им гарантируется

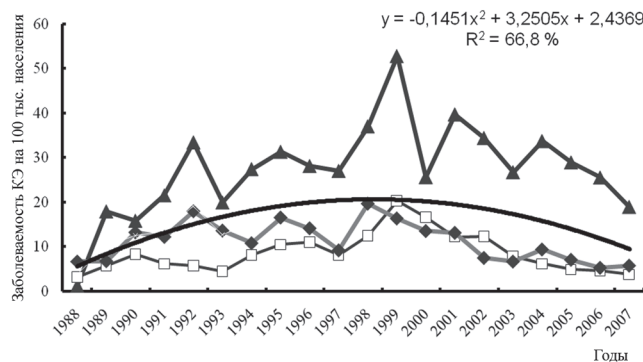


Рис. 1. Заболеваемость населения клещевым энцефалитом в Иркутской, Новосибирской областях и Красноярском крае:

▲ – Красноярский край; □ – Иркутская область;
◆ – Новосибирская область; — – полиномиальный
(тренд средней заболеваемости КЭ на территории
трех субъектов Сибирского ФО)

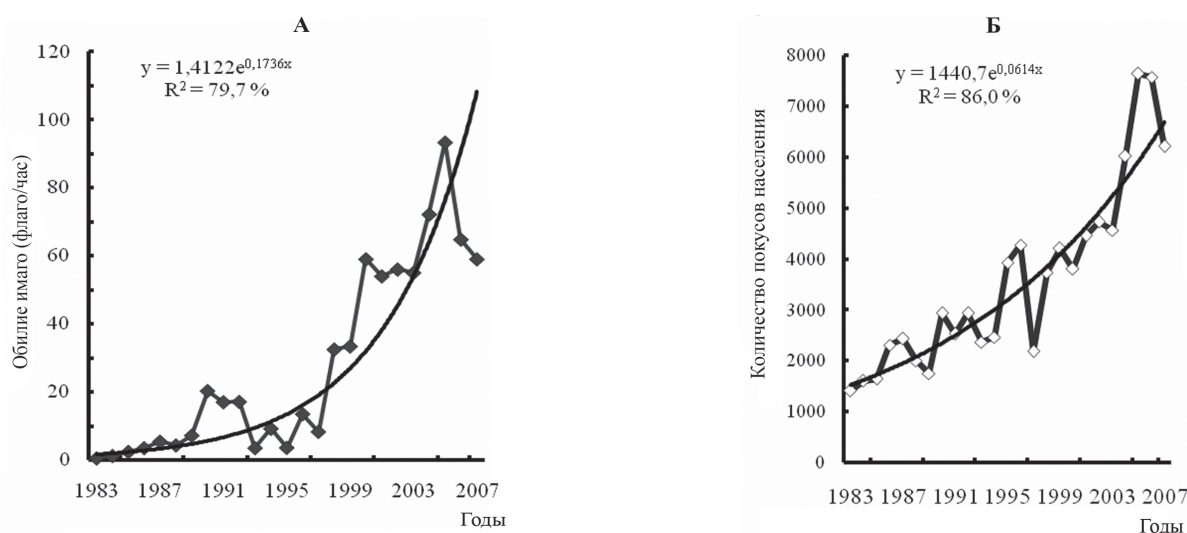


Рис. 2. Изменение обилия имаго таежного клеща в пригородах Иркутска (А) и количества людей, обратившихся в медицинские учреждения для удаления присосавшихся особей переносчика (Б) (на рисунке дано уравнение тренда и доля описываемой им изменчивости):

А: —♦— обилие имаго (флаго/час), — экспоненциальный (обилие имаго, флаго/час).
 Б: —♦— укусы населения; — экспоненциальный (укусы населения)

бесплатная серопрофилактика.

Судя по кривой тренда, полученной для данных усредненных по трем административным территориям Сибирского федерального округа, с начала XXI века наблюдается снижение заболеваемости населения КЭ (рис. 1). Эта макроциклическая составляющая исследуемого процесса детально описана для Иркутской области [7] и находит проявление на территории других субъектов Сибирского федерального округа (рис. 1). Для понимания возможных причин наблюдающегося снижения заболеваемости отметим, что в этот период времени ни в одном из регионов не произошло резкого увеличения масштабов ежегодных акарицидных работ или числа лиц, вакцинированных против КЭ. Учитывая приведенные факты, высказано предположение [7], что наиболее продуктивным направлением для установления причин длительных трендов в ходе заболеваемости в различных частях нозоарела КЭ будет изучение динамики соотношения штаммов с различной вирулентностью, происходящее на фоне изменений климатических переменных.

Как показывает автокорреляционный анализ преобразованных к стационарному виду данных о заболеваемости населения КЭ в Сибирском федеральном округе за 1988–2007 гг., кроме описанного макроцикла (рис. 1), на всех территориях наблюдаются четырехлетние квазициклы. По фазовой структуре они наиболее схожи в Красноярском крае (коэффициент автокорреляции $r_1 = -0,475$; $r_2 = -0,029$; $r_3 = 0,374$; $r_4 = -0,197$) и Новосибирской области ($r_1 = -0,341$; $r_2 = -0,194$; $r_3 = 0,468$; $r_4 = -0,379$). В Иркутской области — $r_1 = 0,132$; $r_2 = -0,321$; $r_3 = 0,047$; $r_4 = 0,181$. Вследствие наложения друг на друга отдельных гармонических составляющих очередной четырехлетний цикл, охватывающий 2005–2008 гг., оказался в Сибирском федеральном округе подавленным макроциклическим трендом спада заболеваемости

населения КЭ, что обусловило наблюдаемый более продолжительный эффект непрерывного снижения показателя. При этом частота контактов населения с клещами за 2005–2007 гг., которую можно оценивать по количеству людей, обратившихся в медицинские учреждения для удаления присосавшихся членистоногих, в Иркутской области и Красноярском крае понизилась (рис. 3). И это при условии роста настороженности населения, вызванного участвовавшими в предшествующие годы случаями заболеваний КЭ, и активно проводимой пропагандой о необходимости обращаться за медицинской помощью при укусах клещей для их исследования на зараженность патогенами. Исключением является Новосибирская область, где в 2005–2007 гг. наблюдали повышение обращаемости людей с присосавшимися клещами [9]. Одной из причин отсутствия роста заболеваемости КЭ на этой территории может являться зарегистрированный в 2006 г. и подтвержденный в 2007 г. факт почти двукратного снижения (с 2,1 до 1,1 %) вирусофорности переносчика (рис. 3). Причем зараженность клещей вирусом КЭ исследовали методом иммуноферментного анализа голодных имаго, который позволяет оценить долю особей с высоким содержанием возбудителя, представляющих наибольшую эпидемиологическую опасность [4, 8–10, 14, 15].

Имеющиеся материалы, характеризующие эпидемиологическую обстановку по КЭ в Сибирском федеральном округе, позволяют предположить, что в 2008 г. она останется неблагоприятной, но на среднем многолетнем уровне с незначительным повышением напряженности природных очагов по сравнению с 2007 г. Одновременное начало нового четырехлетнего квазицикла заболеваемости населения КЭ (с 2008 или 2009 гг.) и ожидаемое изменение трендовой составляющей процесса в макроцикле, которое, судя по рис. 1, может произойти в 2008–2009 гг., позволяет

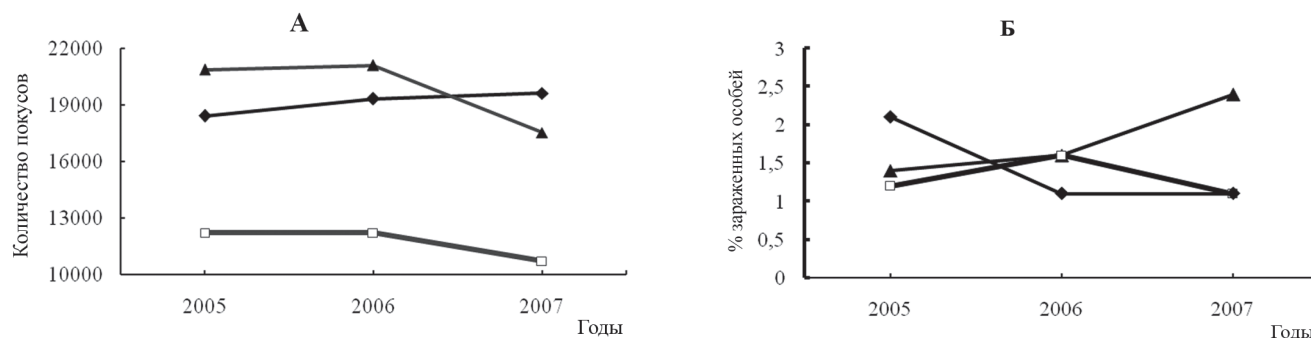


Рис. 3. Изменение количества покусов населения клещами (А) и вирусофорности голодных имаго таежного клеща (Б) на эндемичных территориях Иркутской, Новосибирской областей и Красноярского края:

▲ – Красноярск; ◻ – Иркутск; ◆ – Новосибирск

ожидать общее ухудшение эпидемиологической обстановки в Сибири по этой инфекции в 2009–2010 гг. Однако на отдельных территориях рост заболеваемости может начаться раньше. Так, например, есть данные, которые однозначно свидетельствуют о высокой эпидемиологической опасности природных очагов КЭ в весенне-летний сезон 2008 г. в лесопарковой зоне Новосибирского Научного Центра [9]. Следовательно, подход к профилактике должен строиться с учетом особенностей отдельных территорий, что требует более глубокого изучения популяционной структуры сочленов паразитарной триады КЭ, механизмов естественной цикличности эпидемического процесса.

Из особенностей эпидемиологической обстановки, сложившейся на территории нозоареала КЭ в Сибири, отметим следующие моменты.

1. Таежный клещ практически по всему нозоареалу КЭ микстинфицирован боррелиями и вирусом КЭ [5, 13, 15]. Из этого следует, что диагностика, профилактика и начальные этапы лечения заболеваний, связанных в анамнезе с клещами из природных биотопов, должны основываться на выяснении этиологии болезни.

2. Таежный клещ все больше проникает непосредственно в черту городов, что увеличивает заболеваемость городского населения и людей, профессионально не связанных с работой в лесной зоне, особенно пенсионеров [5, 9, 13, 15]. Все это требует учета при организации и проведении программ вакцинопрофилактики, разработке мероприятий по истреблению клещей в городах.

3. Таежный клещ расширяет ареал обитания, причем проникает все дальше на север [5, 13]. Так, еще недавно в Иркутской области он практически отсутствовал после 59° с.ш. Сейчас особей вида находят вплоть до 62° с.ш. Следовательно, можно ожидать постепенного ухудшения эпидемиологической обстановки в более северных районах. Подобная тенденция уже начала проявляться в отношении заболеваемости населения клещевыми боррелиозами.

4. Для современного этапа развития эпидемиологической ситуации по КЭ и другим трансмиссивным клещевым инфекциям в Сибири характерно удлинение эпидемиологически опасного периода, что,

вероятнее всего, связано с потеплением климата, способствующего увеличению периода активности имаго клещей [7, 13, 15]. Это требует своевременной корректировки плановых сроков акарицидных работ и вакцинации населения.

5. В динамике изменения всех компонентов паразитарной триады КЭ выявлены циклические составляющие [2, 7, 12, 13, 15]. Эти процессы необходимо учитывать как для объективной оценки сложившейся эпидемиологической обстановки, так и для прогноза ее дальнейшего развития и научно обоснованного планирования мер профилактики. В этой связи отметим, что показатели интенсивности эпизоотического процесса находятся в нижней фазе очередного естественного цикла.

6. Показано, что в настоящее время в структуре вирусной популяции на эндемичной территории трех описываемых регионов преобладают штаммы вируса КЭ сибирского подтипа [1, 2, 6, 11]. По мнению некоторых авторов [3], они отличаются меньшей вирулентностью для человека, хотя существует и иная точка зрения [11]. Вопрос о необходимости дифференцированного подхода при применении диагностических и профилактических препаратов с учетом доминирующих вариантов вируса сейчас изучается.

Исходя из сложившейся эпидемиологической обстановки по КЭ в Сибири, считаем необходимым для совершенствования всего комплекса мер профилактики этой болезни особое внимание уделить следующим моментам.

Во-первых, нужно признать, что объем охвата людей вакцинацией против КЭ недостаточно велик, но вряд ли он может быть существенно увеличен в связи с ограниченностью финансовых возможностей региональных бюджетов. Сейчас в Красноярске в среднем ежегодно прививают (вакцинация и ревакцинация) 86000 человек, в Иркутске – 52000, в Новосибирске – 50873. Финансовые ограничения при проведении этих мероприятий усиливают значение правильного выбора групп людей, которые должны быть вакцинированы в первую очередь. Считаем необходимым, увеличить охват активной иммунизацией детей и лиц из социально незащищенных слоев населения (пенсионеров, домохозяек и других людей,

постоянно выезжающих на садово-дачные участки).

Во-вторых, большую роль в снижении уровня заболеваемости населения КЭ играют специализированные Центры экспресс-диагностики и профилактики трансмиссивных инфекций в случае своевременного и адекватного назначения специфического лечения [9, 10, 15]. Потенциал их эффективности еще далек от исчерпания, так как по данным, полученным при социопросе иркутян, только около 40 % людей обращается в Центры после контакта с клещами.

В-третьих, необходимо признать, что при запрете на авиаобработки и применение высокоперсистентных пестицидов нет оснований ожидать значительных подвижек в борьбе с переносчиком путем использования акарицидов. Сопоставление объемов подобных работ на разных территориях показывает, что отдельные субъекты Сибирского федерального округа за счет бюджетов крупных городов способны ежегодно истреблять клещей на площади около 1,5–2,0 тыс. га. Незначительность площадей акарицидных обработок требует подходить к подбору объектов для ее проведения дифференцированно, обеспечив в первую очередь 100 % охват территорий лагерей летнего отдыха детей и загородных оздоровительных учреждений. Необходимо своевременно проводить лесотехнические мероприятия и дератизацию в населенных пунктах, а также истребление переносчика на сельскохозяйственных животных с целью снижения обилия прокормителей иксодид и возможности завершения ими жизненного цикла. Очень важным моментом в профилактике КЭ является совершенствование системы проведения региональных тендеров на заключение договоров о противоклещевых обработках. Пока они нередко проводятся с опозданием по отношению ко времени эпидемиологического сезона, а доминирующим критерием выбора победителя является не качество работ, а предложенная исполнителями стоимость услуг.

В-четвертых, не получили должного распространения и требуют совершенствования методы индивидуальной защиты людей от присасывания клещей.

Считаем, что в дальнейшем необходимо в каждом регионе выделить зоны наибольшего риска заражения населения КЭ. Применяя в них весь комплекс мер специфической и неспецифической профилактики, разработать для каждой из зон оптимальное сочетание разных мероприятий, исходя из анализа конкретных причин повышенной эпидемиологической опасности в этом районе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андаев Е.И., Трухина А.Г., Борисова Т.И., Никитин А.Я., Погодина В.В., Бочкова Н.Г. и др. Мониторинг популяции вируса клещевого энцефалита в таежных клещах пригородной зоны Иркутска. В кн.: Матер. VI науч.-практ. конф. «Проблемы прогнозирования чрезвычайных ситуаций». 2006. С. 6–8.
2. Бахвалова В.Н., Морозова О.В., Морозов И.В. Свойства популяции вируса клещевого энцефалита, циркулировавшей в 1980–2006 гг. на территории Новосибирской области. Бюл. СО РАМН. 2007; 126:41–8.
3. Борисов В.А., Ющук Н.Д., Малов И.В., Аитов К.А. Некоторые клинико-патогенетические параллели при клещевом энцефалите. Эпидемиол. и инф. бол. 2000; 2:43–7.
4. Бочкова Н.Г., Баширицев В.Н., Левина Л.С., Ларина Г.И., Погодина В.В., Рясова Р.А. и др. Опыт применения иммунофер-

ментного метода для индикации вируса клещевого энцефалита в различных очагах. Вopr. вирусол. 1990; 35:165–7.

5. Данчинова Г.А., Хаснаинов М.А., Шулунов С.С., Арбатская Е.В., Бадуева Л.Б., Сунцова О.В. и др. Фауна и экология популяций иксодовых клещей – переносчиков клещевых инфекций в Прибайкалье. Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2007; 55:66–9.

6. Карань Л.С., Маленко Г.В., Бочкова Н.Г., Левина Л.С., Пиванова Г.П., Колясникова Н.М. и др. Применение молекулярно-генетических методик для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита. Бюл. СО РАМН. 2007; 126:34–40.

7. Коротков Ю.С., Никитин А.Я., Антонова А.М. Роль климатических факторов в многолетней динамике заболеваемости населения г. Иркутска клещевым энцефалитом. Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2007; 55:121–5.

8. Мельникова О.В., Ботвинкин А.Д., Данчинова Г.А. Сравнительные данные о зараженности клещевым энцефалитом голодных и питавшихся таежных клещей (по результатам иммуноферментного анализа). Мед. паразитол. 1997; 1:44–9.

9. О санитарно-эпидемиологической обстановке и соблюдении законодательства в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в Новосибирской области в 2006 году: Государственный доклад. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новосибирской области; 2007. 288 с.

10. Пеньевская Н.А. Проблемы оценки протективной активности препаратов для иммунопрофилактики клещевого энцефалита (КЭ) в реальных эпидемиологических условиях. Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2007; 55:143–6.

11. Погодина В.В., Карань Л.С., Бочкова Н.Г., Колясникова Н.М., Левина Л.С., Маленко Г.В. и др. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя. Вopr. вирусол. 2007; 5:16–21.

12. Филиппова Н.А., редактор. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (*Acarina Ixodidae*). Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука; 1985. 420 с.

13. Хазова Т.Г. Эколого-паразитологическая характеристика природных очагов клещевого энцефалита в Красноярском крае. Бюл. СО РАМН. 2007; 126:94–9.

14. Щипакин В.Н., Семашко И.В., Караванов А.С., Бычкова М.В., Баннова Г.Г. Оценка чувствительности иммуноферментного метода в определении инфекционного и неинфекционного антигенов вируса клещевого энцефалита. Вopr. вирусол. 1989; 5:634–7.

15. Ястребов В.К. Клещевой энцефалит в Сибири: эпидемиология, сочетанность природных очагов. Бюл. СО РАМН. 2007; 126:89–93.

A.Ya.Nikitin, S.V.Balakhonov, E.I.Andaev, T.G.Khazova, G.A.Evtushok, L.I.Kozlovsky, E.V.Ivanova

Tick-Borne Encephalitis Epidemiological Situation, its Prognostication and Main Trends of Preventive Measures in Siberian Regions

Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East; Center for Hygiene and Epidemiology in Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk; Center for Hygiene and Epidemiology in Novosibirsk Region, Novosibirsk

Performed was analysis of long-term dynamics of tick-borne encephalitis (TBE) morbidity, the taiga ticks abundance, number of bites to which urban residents had been subjected, imago virus carriage. All these indices were shown to change in a cyclic manner. Worsening of TBE epidemiological situation was prognosticated in Siberia for the period of 2009–2010. Plans of preventive measures, optimally combining both specific and non-specific ones, should be elaborated for the areas with the highest risk of TBE infection for humans, taking into consideration increased epidemiological danger of the region, presence of mixed infections in ticks, social structure of the population.

Key words: taiga tick, tick-borne encephalitis, epidemiological situation, imago abundance, virus carriage, specific and non-specific prophylaxis.

Об авторах:

Никитин А.Я. (вед.н.с.), Балахонов С.В. (директор), Андаев Е.И. (зав. лаб.). Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. Тел.: (395-2) 22-01-35. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Хазова Т.Г. (зав. отд.), Евтущок Г.А. (зав. отд.). Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае. 660100, Красноярск, ул. Сопочная, 38. E-mail: root@cgsn.krasnoyarsk.ru

Козловский Л.И. (зав. отд.), Иванова Е.В. (зав. лаб.). Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области. 630099, Новосибирск, ул. Фрунзе, 84. Тел.: (383-2) 24-24-52. E-mail: zavepid@cn.ru

Поступила 16.06.08.

В.П.Топорков, Л.Н.Величко, А.Е.Шиянова, Е.В.Куклев, Н.В.Попов,
М.А.Тарасов, С.А.Щербакова, Т.Б.Каравая

ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГЛПС ПО ФЕДЕРАЛЬНЫМ ОКРУГАМ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ С 2001 ПО 2007 ГОД

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

Проведенный ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости ГЛПС с 2001 по 2007 год показал, что наибольшая заболеваемость регистрировалась в ПФО со средним ИП, равным $19,5 \pm 2,3$ и превышающим аналогичный показатель в стране в 4 раза, а удельный вес ее составил 86,1 % от общего числа больных. В остальных 6 округах показатели заболеваемости ГЛПС были ниже общероссийского в 3–4 и более раз. За анализируемый период наблюдалась тенденция к повышению уровня заболеваемости ГЛПС в Центральном округе в 2 раза, Северо-Западном и Уральском в 1,2 раза, к снижению – в Приволжском и в целом по стране в 1,2–1,1 раза, в Дальневосточном округе – к стабилизации на низком уровне.

Ключевые слова: ГЛПС, динамика заболеваемости, удельный вес, федеральные округа.

В настоящее время геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) наиболее распространенное природно-очаговое заболевание вирусной этиологии в Российской Федерации (РФ). ГЛПС имеет большую социально-экономическую значимость для страны из-за высоких показателей заболеваемости в ряде субъектов федерации и значительной стоимости лечебно-профилактических мероприятий. На лечение больных с 2001 по 2007 год израсходовано 1108,07 млн рублей [4, 5, 8, 9, 10, 11].

ГЛПС вызывается в основном 5 видами хантавирусов (Пуумала и Добrava в Европейской части России и Хантаан, Сеул и Амур на Дальнем Востоке).

На территории России инфицированными хантавирусами в разные годы и на различных территориях оказались 29 видов (41 %) из 71 исследованного вида мелких млекопитающих. Все очаги ГЛПС на европейской части Российской Федерации полигостальны, но наибольшее эпидемиологическое значение придается рыжей полевке, доминирующей по численности и зараженности возбудителем ГЛПС.

Для лабораторной диагностики ГЛПС у людей (больных и реконвалесцентов) применяется «Культуральный поливалентный диагностический для непрямого метода флюоресцирующих антител (НМФА)». Препарат сертифицирован, выпускается Институтом полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН. Для исследования грызунов используется иммуноферментная тест-система «Хантагност», не позволяющая дифференцировать хантавирусы. В ЦНИИЭ разработана ОТ-ПЦР-тест-система для детекции 4 видов хантавирусов – Пуумала, Хантаан, Сеул, Добrava.

В 80-е годы XX столетия помимо лесной зоны эпидемически активные очаги ГЛПС выявлены также в антропогенном ландшафте лесостепной зоны России и на Кавказе (в Краснодарском крае в 1986 г., Смоленской области в 1989–1991 гг.). В осенне-зимний период 1991–1992 гг. впервые зарегистри-

рована вспышка ГЛПС в Тульской и Рязанской областях (130 случаев), вызванная хантавирусом Добrava, а полевая мышь явилась наиболее вероятным хозяином вируса и источником заражения [1]. На этих территориях циркулируют два подтипа хантавируса Добrava, резервуаром которых является полевая мышь в Центральном регионе и лесная мышь в Краснодарском крае [1, 2, 3].

Целью исследования является анализ динамики заболеваемости ГЛПС в федеральных округах Российской Федерации с 2001 по 2007 год.

Для анализа использованы данные официальной статистики Минздравсоцразвития России, противочумного центра, Федерального центра гигиены и эпидемиологии и литературные источники. Методы вариационной статистики применены для определения интенсивных показателей заболеваемости на 100 тыс. населения (ИП), средней ошибки (m) к ним, экстенсивных показателей заболеваемости и их ошибок, тенденции динамики заболеваемости с использованием параболы I порядка [7].

Эпидемиологическая ситуация по ГЛПС в РФ остается напряженной, с 2001 по 2007 год зарегистрировано более 49,2 тыс. случаев заболевания. Среднемноголетний ИП с 2001 по 2007 год равнялся $4,9 \pm 0,5$. Наибольшая заболеваемость отмечалась в 2001 и 2004 гг., когда ИП составляли 5,7 и 7,1; наименьшая – в 2003 г. (ИП=3,2). В стране за анализируемый период наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости ГЛПС в 1,1 раза, с 5,11 до 4,66 на 100 тыс. населения.

С 2001 по 2007 год наибольшее число больных ГЛПС зарегистрировано в Приволжском федеральном округе (ПФО), более 42,3 тыс., что составило 86,1 % от заболеваемости в РФ. ИП по годам колебались от 11,8 до 27,7 (таблица). Высокая заболеваемость наблюдалась в 2001, 2004 и 2005 годах, когда ИП составлял 21,5–27,7; в 2002, 2003 и 2007 гг. он снизился до 12,2 и 17,7. Среднемноголетний ИП составил $19,5 \pm 2,3$ и был выше аналогичной вели-

Динамика заболеваемости ГЛПС по федеральным округам РФ с 2001 по 2007 год

Федеральный округ	Кол-во больных в абсолютных числах / ИП на 100 тыс. населения по годам						
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Россия	8356/5,7	4605/3,2	6349/4,5	10244/7,1	7330/5,1	7197/5,0	5126/3,6
Северо-Западный	63/0,4	79/0,5	45/0,3	97/0,7	86/0,6	69/0,3	72/0,5
Центральный	488/1,3	437/1,2	483/1,3	825/2,3	242/0,6	377/1,0	1252/3,4
Южный	43/0,2	22/0,1	8/0,04	49/0,2	20/0,1	15/0,07	10/0,05
Приволжский	7477/23,4	3877/12,2	5613/17,7	8753/27,7	6651/21,4	6413/19,9	3602/11,8
Уральский	157/1,2	75/0,6	91/0,7	409/3,3	135/1,1	233/1,6	80/0,7
Сибирский	1/0,01	-	1/0,01	1/0,01	1/0,01	-	-
Дальневосточный	127/1,8	115/1,6	108/1,5	110/1,6	195/2,9	90/1,2	110/1,7

чины в РФ в 4 раза ($p < 0,01$). В округе наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости в 1,2 раза, с 20,63 до 17,47 на 100 тыс. населения. Случаи заболевания ГЛПС регистрировались во всех 14 субъектах округа. Наибольшая заболеваемость наблюдалась в Удмуртской республике, Башкортостане, Марий Эл и Оренбургской области, среднемноголетний ИП составил 52,8, 49,8; 27,5 и 24,7 соответственно и превышал аналогичный показатель в ПФО в 2,7, 2,5, 1,4, 1,3 раза, а в РФ – 5,0–10,7 раза. В Удмуртии подъемы заболеваемости наблюдались в 2001 г. до 113,5 и 2004 г. – до 123,5 на 100 тыс. населения. В Башкортостане повышение заболеваемости наблюдалось в 2001, 2004, 2006 гг. до 60,0, 64,6, 71,0 на 100 тыс. населения. В 2005 г. в Оренбургской области впервые отмечен необычный подъем заболеваний ГЛПС, было выявлено 1288 случаев (ИП равнялся 59,4), предыдущий подъем (до 35,6) отмечался в 2003 г. Заболеваемость ГЛПС средней интенсивности наблюдалась в Саратовской, Нижегородской, Кировской областях с ИП равным 3,7–6,7. В 7 субъектах ПФО (Мордовия, Татарстан, Чувашия, Пермский край, Пензенская, Самарская, Ульяновская области) отмечалась высокая заболеваемость со среднемноголетним ИП от 10,6 до 15,7.

Тенденция к повышению заболеваемости ГЛПС наблюдалась в Оренбургской области в 1,3 раза, к стабилизации на высоком уровне – в Башкортостане, Татарстане, к снижению – в 1,2–2,8 раза в Марий Эл, Удмуртии, Чувашии, Кировской, Пензенской, Саратовской, Самарской и Ульяновской областях.

В Центральном федеральном округе (ЦФО) за анализируемый период зарегистрировано более 4,1 тыс. больных ГЛПС, что составило 8,3 % от заболеваемости в РФ. ИП по годам варьировал от 0,6 до 3,4. Наибольшая заболеваемость наблюдалась в 2004 и 2007 гг., ИП составил 2,2 и 3,4; наименьшая – в 2005 г. с ИП равным 0,6. Среднемноголетний ИП в округе составил $1,6 \pm 0,3$ и был ниже аналогичной величины в РФ в 3 раза ($p < 0,01$). ГЛПС регистрировалась во всех 18 субъектах округа. Наибольшее число случаев ГЛПС отмечалось в Тульской, Ярославской, Воронежской, Липецкой, Рязанской областях, на их долю приходится 18,9, 15,2, 14,0, 14,6, 24,6 % больных

соответственно, а среднемноголетний ИП равнялся $6,7 \pm 1,4$, $6,5 \pm 2,0$, $2,0 \pm 0,9$, $4,1 \pm 3,1$, $3,3 \pm 0,8$. Тенденция к снижению заболеваемости имела место в Тульской области в 2,7 раза, к повышению – Ярославской, Владимирской, Воронежской, Липецкой, Рязанской, Тверской в 2,1–2,7 раза. В целом по ЦФО наблюдалась тенденция к увеличению заболеваемости ГЛПС в 2 раза с 1,02 до 2,14 на 100 тыс. населения.

В зимний период 2006–2007 гг. произошла активизация природных очагов ГЛПС в Липецкой, Воронежской, Тамбовской, Рязанской областях. Осложнение эпидемической ситуации по ГЛПС в Липецкой области началось с 18 декабря 2006 г. Вспышка длилась 11 недель, наибольшее число больных выявлено в первые 4 недели, когда было госпитализировано 154 чел. (64,4 % больных). С 15.01.07 г. наблюдалось снижение темпов прироста заболеваний в 3–4 раза [6]. Всего за период вспышки в Липецкой области зарегистрировано 253, Воронежской – 200, Тамбовской – 71, Рязанской – 69 случаев ГЛПС.

В Уральском федеральном округе (УФО) зарегистрировано 1180 случаев ГЛПС, что составило 2,4 % от заболеваемости в РФ. ИП заболеваемости по годам колебались от 0,6 до 3,3. Наибольшая заболеваемость отмечалась в 2004 г. с ИП равным 3,3. Среднемноголетний ИП составил $1,3 \pm 0,4$ и был ниже общероссийского показателя в 3,8 раза с достоверной разницей ($p < 0,01$). В округе наблюдалась тенденция к повышению заболеваемости ГЛПС в 1,2 раза ($y_1 = 1,21$ – $1,41$ на 100 тыс. населения). ГЛПС регистрировалась в 5 из 6 субъектов округа. Наибольшее число случаев заболевания (920) отмечалось в Челябинской области, на ее долю пришлось 78 % заболеваемости в округе. Наблюдался резкий подъем заболеваемости в Свердловской области с 6 случаев в 2003 г. до 126 в 2004 г., а за весь анализируемый период в ней зарегистрировано 199 случаев ГЛПС, что составило 16,9 % от заболеваемости в округе. Тенденция к стабилизации заболеваемости ГЛПС на среднем уровне наблюдалась в Челябинской области ($y_1 = 3,32$ – $3,88$ на 100 тыс. населения), к повышению в 1,2 раза – в Свердловской.

В Дальневосточном федеральном округе (ДФО)

за анализируемый период зарегистрировано 855 случаев ГЛПС, что составило 1,7 % от заболеваемости в РФ. Наибольшее число случаев наблюдалось в 2005 г. с ИП равным 2,9; в остальные годы он составлял 1,5–1,79. Средний ИП за 7 лет равный 1,7±0,2, был ниже общероссийского в 3 раза ($p<0,01$). Заболевания ГЛПС регистрировались в 4 из 10 субъектов округа. Подавляющее число больных наблюдалось в Приморском и Хабаровском краях (58,5 и 21,6 %, средний ИП составил 3,5±0,5, 2,1±0,3 соответственно). Наибольшая заболеваемость отмечалась в Еврейской автономной области, где среднемноголетний ИП составил 4,9±0,8, в Амурской области он равнялся 0,7±0,15. В Приморском крае и Еврейской автономной области наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости в 1,2–1,6 раза, Хабаровском крае – к повышению в 1,3, в целом по ДФО – к стабилизации.

В Южном федеральном округе (ЮФО) зарегистрировано 167 случаев ГЛПС, что составило 0,3 % от заболеваемости в РФ, среднемноголетний ИП равнялся 0,1±0,03 и был ниже аналогичного показателя в стране в 49 раз ($p<0,001$). Заболевания ГЛПС наблюдались в 2 из 13 субъектов, на долю Волгоградской области приходится 58,6 %, Краснодарского края – 41,4 % больных. За анализируемый период наблюдалась тенденция к снижению заболеваемости в округе в 2,6 раза, с 0,15 до 0,06 на 100 тыс. населения.

В Северо-Западном федеральном округе (СЗФО) отмечено 511 случаев ГЛПС, что составило 1,0 % от заболеваемости в РФ, среднемноголетний ИП равнялся 0,5±0,05 и был ниже аналогичного показателя в стране в 9,8 раза ($p<0,01$). ГЛПС отмечалась в 9 из 11 субъектов округа, свободны от нее Новгородская область и Ненецкий автономный округ, по одному году ГЛПС регистрировалась в Архангельской и Псковской областях. Наибольшая заболеваемость отмечалась в Вологодской области (средний ИП составил 2,5±0,6), в ней наблюдалась тенденция к повышению уровня заболеваемости в 1,4 раза, с 2,1 до 2,85 на 100 тыс. населения. В 5 субъектах округа регистрировалась низкая заболеваемость со средними ИП равным 0,3–0,7, тенденция к снижению отмечалась в Калининградской области в 3 раза, к стабилизации – Санкт-Петербурге, к повышению в 1,1–3,7 раза в Ленинградской области, Коми, Карелии и в целом по всему округу.

Единичные случаи ГЛПС регистрировались в Сибирском федеральном округе (СФО), среднемноголетний ИП равнялся 0,06, а доля в заболеваемости РФ составила 0,01 %.

Таким образом, результаты анализа заболеваемости ГЛПС в отдельных федеральных округах РФ свидетельствуют о напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС, с 2001 по 2007 год, в стране зарегистрировано более 49,2 тыс. случаев заболевания. Наибольшая заболеваемость отмечалась в

ПФО со среднемноголетним ИП равным 19,5±2,3 и превышающим аналогичный показатель в стране в 4 раза, на долю округа приходится 86,1 % от общего числа больных. В остальных 6 округах показатели заболеваемости ГЛПС были ниже общероссийского в 3–4 и более раз. В ЦФО, СЗФО, УФО наблюдалась тенденция к повышению уровня заболеваемости ГЛПС за анализируемый период в 1,2–2 раза, к снижению – в ПФО и стране в 1,1–1,2 раза, к стабилизации – в ДФО. На долю ЦФО приходится 8,3 % от общего числа больных. Зимой 2006–2007 гг. произошла активизация природных очагов ГЛПС в Липецкой, Воронежской, Тамбовской, Рязанской областях, на ее фоне в 4 областях зарегистрировано 593 случая ГЛПС. Заболеваемость ГЛПС связана с высокой активностью природных очагов, отсутствием специфической профилактики, трудностью борьбы с грызунами, частым контактом населения с природными очагами по производственным и личным нуждам. Для снижения заболеваемости ГЛПС необходимо выполнение всего комплекса профилактических мероприятий в природных очагах: эпизоотологический мониторинг и эпидемиологический надзор; барьерная и поселковая дератизация; санитарно-гигиенические и санитарно-технические мероприятия, направленные на исключение условий для проникновения грызунов в здания; информационно-разъяснительная работа среди населения по профилактике ГЛПС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апекина Н.С., Мясников Ю.А., Бобылкина Т.В., Демина В.Т., Ручкина Н.Ю., Грищенко Е.Н. и др. Некоторые особенности циркуляции хантавируса, сходного с вирусом Добrava, выявленного на европейской части России. В кн.: Акт. пробл. природно-очаговых инф. Ижевск; 1998. С. 19–21.
2. Апекина Н.С., Мясников Ю.А., Бобылкина Т.В., Ручкина Н.Ю., Грищенко Е.Н., Новохацко А.Д. и др. Эпидемиологические особенности ГЛПС, вызванной хантавирусом Добrava. В кн.: Акт. аспекты природно-очаговых бол. Омск; 2001. С. 84–5.
3. Балакирев А.Е., Баширицев В.Н., Седова Н.С., Окулова Н.М., Транквиловский Д.В., Сикора И.В. др. Эпизоотология геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Центральном Черноземье. Вopr. вирусол. 2006; 5:28–31.
4. Величко Л.Н., Кокушкин А.М., Дობло А.Д., Салабуда М.П., Куклев Е.В. Заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) в Поволжском, Уральском и Волго-Вятском регионах. В кн.: Природно-очагов. инф. в России: совр. эпид., диагн., тактика защиты населен. Омск; 1998. С. 102–3.
5. Куклев Е.В., Минин Г.Д., Коробов Л.И., Степаненко А.Г., Фарвазова Л.А., Рожкова Е.В. и др. Природно-очаговые инфекции в Приволжском федеральном округе: структура и динамика заболеваемости. Сообщение I. Заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом. Пробл. особо опасных инф. 2004; 1(87):28–30.
6. Мурашкина А.Н., Савельев С.И., Ходякова И.А., Щукина И.А., Зубченко Н.В., Дроздова В.Ф. и др. Вспышка геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Липецкой области. В кн.: Матер. VIII межгос. науч.-практ. конф. гос.-участников СНГ. Саратов; 2007. С. 83–8.
7. Плехинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во Моск. ун-та; 1970. С. 245–7.
8. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.02.2005 года № 9 «О состоянии заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом и мерах по предупреждению ее распространения».
9. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29.08.2006 года № 27 «О мерах борьбы с грызунами и профилактике природно-очаговых, особо опасных инфекционных заболеваний в Российской Федерации».

10. Тарасов М.А., Попов В.Н., Величко Л.Н., Кузнецов А.А., Яковлев С.А., Матросов А.Н. и др. Ландшафтно-геоботанические и эколого-эпизоотологические особенности проявления активности очагов ГЛПС на территории Приволжского Федерального округа. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):43–6.

11. Шаханина И.Л., Осипова Л.А. Экономические потери от инфекционной заболеваемости в России: величины и тенденции. Эпидемиол. и инф. бол. 2005; 4:19–21.

V. P.Toporkov, L.N.Velichko, A.E.Shiyanova, E.V.Kouklev, N.V.Popov, M.A.Tarasov, S.A.Scherbakova, T.B.Karavaeva

**HFRS Morbidity Dynamics in Federal Districts
of the Russian Federation from 2001 to 2007**

Russian Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

The retrospective epidemiologic analysis of HFRS morbidity carried out from 2001 to 2007 showed that the highest sickness rate was registered

in Privolzhsky federal district with 20.4 ± 2.3 average index that exceeded the similar one countrywide 4-fold and the incidence specific weight was 88.0 % of the total number of cases. The indexes of HFRS incidence in the rest 6 districts were lower than the Russia wide one 3–4-fold and more. During the analyzed period the tendency to increase the HFRS incidence level was observed in Privolzhsky, Ural and Far East districts and in the country.

Key words: HFRS, incidence dynamics, specific weight, Federal Districts.

Об авторах:

Топорков В.П. (зав. лаб.), Величко Л.Н. (с.н.с.), Шиянова А.Е. (м.н.с.), Куклев Е.В. (вед.н.с.), Попов Н.В. (зав. лаб.), Тарасов М.А. (с.н.с.), Щербакowa С.А. (зав. лаб.), Караваева Т.Б. (зав. отд.). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 73-46-48. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 25.03.08.

И.А.Баркова, В.В.Алексеев, А.В.Липницкий, А.М.Барков, Л.В.Буханцова

ПРОДУКЦИЯ БЕЛКОВ S-СЛОЯ РАЗНЫМИ ШТАММАМИ *BACILLUS ANTHRACIS*

ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт»

Цель исследования – антигенный анализ и определение принадлежности к S-слою идентичных по молекулярной массе белков, выделенных из культуральных фильтратов *B. anthracis*. Изучены антигенные свойства белков, продуцируемых штаммами *B. anthracis* СТИ (рХО1⁺, рХО2⁻), Davies (рХО1⁻, рХО2⁺), 81/1TR (рХО1⁻, рХО2⁻), которые элюировались в свободном объеме (фракция 1) при разделении культуральных фильтратов на сверхтонком сефакриле S-300. Показано, что сыворотки к фракциям 1 КФ штаммов *B. anthracis* СТИ, а также *B. anthracis* 81/1TR и Davies содержали антитела к неидентичным антигенам. Белки, идентифицированные с помощью сывороток, отнесены к антигенам S-слоя *B. anthracis* на основании м.м. 94 кДа, характерной для белков S-слоя, локализации на поверхностных структурах вегетативных клеток, а также независимости продукции от плазмид вирулентности.

Ключевые слова: *B. anthracis*, плазмиды вирулентности, культуральные фильтраты, гель-хроматография, белки S-слоя.

Штаммы *Bacillus anthracis* при культивировании в жидких питательных средах продуцируют большое количество белков, многие из которых кодируются хромосомой [7, 11].

К белкам, кодируемым хромосомой, относятся белки S-слоя – Sap (surface array protein) и EA1 (extractable antigen). Синтез белков S-слоя детерминирован хромосомными генами *sap* и *eag* и зависит от AtxA и PagR регулонов, расположенных на плазмиде рХО1. Поэтому рХО1⁺ и рХО1⁻ штаммы различаются по продукции белков S-слоя [13]. Белки Sap и EA1 последовательно присутствуют на клеточной поверхности *B. anthracis*. Совместное сосуществование обоих белков на клеточной поверхности возможно в момент начала синтеза EA1 и замещения Sap на EA1. В течение стационарной фазы роста замещение белков заканчивается выделением Sap в супернатант [12]. В культуральных супернатантах определяются оба белка, в отличие от EA1 белок Sap присутствует в значительном количестве [7, 11, 12].

В предыдущих работах мы сообщали о выделении белков, которые элюировались в свободном объеме (фракция 1) при разделении культуральных фильтратов (КФ) *B. anthracis* СТИ и 81/1TR на сверхтонком сефакриле S-300 [2, 3]. Сыворотка к белку фракции 1 (ФР1) КФ *B. anthracis* СТИ оказалась пригодной для дифференциации штаммов *B. anthracis* от спорообразующих бацилл [1, 3]. Принадлежность выделенных белков к антигенам S-слоя не изучалась.

Цель настоящей работы – антигенный анализ и определение принадлежности к S-слою идентичных по молекулярной массе белков, выделенных из культуральных фильтратов штаммов *B. anthracis*.

Материалы и методы

В качестве штаммов-продуцентов белков S-слоя

изучены: *B. anthracis* СТИ (рХО1⁺, рХО2⁻) – одноплазмидный токсинпродуцирующий штамм; *B. anthracis* Davies (рХО1⁻, рХО2⁺) – одноплазмидный капсулообразующий штамм (коллекция патогенных бактерий Волгоград НИПЧИ); *B. anthracis* 81/1 TR (рХО1⁻, рХО2⁻) – бесплазмидный штамм, полученный температурной элиминацией плазмид [10]. Для определения независимости синтеза белков S-слоя от плазмид вирулентности использованы варианты типичного вирулентного штамма *B. anthracis* 81/1 – *B. anthracis* 81/1R (рХО1⁺, рХО2⁻), *B. anthracis* 81/1TR (рХО1⁻, рХО2⁻).

Бесклеточные КФ получали на R-среде, рН 8,0–8,3 [14] и R-среде, обогащенной казаминовыми кислотами («Difco», США) из расчета 4 г на 1 л питательной среды. Получение бесклеточных КФ и выделение из них белков гель-хроматографией на сверхтонком сефакриле S-300 при λ=280 нм [2]. Белки КФ осаждали ацетоном. Для этого соединяли равные объемы (по 0,3 мл) охлажденного ацетона и КФ, выдерживали 16 ч при 2 °С, центрифугировали при 12000 об/мин, 5 мин (центрифуга «Sigma 202M»). К осадку добавляли экстрагирующий буфер, состоящий из 5 мМ трис-гидрохлорида, 5 мМ 2-меркаптоэтанол, 1 % SDS (рН 9,8), из расчета 10 мкл на 1 мг осадка, прогревали 30 мин при 70 °С, хранили в замороженном состоянии до использования.

Концентрацию белка в КФ и его фракциях, в сыворотках и выделенных из них иммуноглобулинах определяли на спектрофотометре «Perkin-Elmer 550» при λ=280 нм.

Электрофорез в ПААГ в присутствии ДСН и иммуноблоттинг проводили по методике, изложенной в руководстве «Hoefer Scientific Instruments 1988–1989». San Francisco, California.

Электрофореграммы белков окрашивали Ку-масси R-250 («Serva»). Для определения молекуляр-

ной массы белков применяли маркеры фирмы «Хеликон», Россия (м.м. 14,4–97 кДа). Молекулярную массу белков определяли по электрофоретической подвижности с использованием компьютерной программы «LabImage». Иммуноблоты инкубировали с антикroлическими пероксидазными конъюгатами («Медгамал», Россия), визуализировали О-диаминобензидином («Serva»). Электрофореграммы и иммуноблоты сканировали или фотографировали цифровой камерой «Dimage 323 Konica» (Китай).

Сыворотки к фракциям получали иммунизацией кроликов и изучали в реакции иммунодиффузии в геле (РИД) и в реакции иммунодиффузии с антигенами растущих культур (РИД РК) [3].

Иммуноглобулины сывороток выделяли полиэтиленгликолем, метили флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ), использовали в методе флуоресцирующих антител (МФА) [6].

Результаты и обсуждение

Жидкая питательная R-среда была выбрана для получения внеклеточных антигенов в связи с тем, что она обеспечивает не только внутриклеточный синтез белка, но и выделение его во внеклеточное пространство. Кроме того, высокий показатель рН 8,2–8,4 снижает действие протеаз [14]. Однако такая среда оказалась малопродуктивной для выделения белка S-слоя, который продуцировался в значительно большем количестве при выращивании токсинпродуцирующего и бесплазмидного штам-

мов *B. anthracis* Sterne в богатой питательной среде, включающей дрожжевой экстракт и триптон [9]. Обогащение дрожжевым экстрактом R-среды обуславливало более высокую продукцию белков *B. anthracis*, однако при фракционировании культуральных фильтратов исключалась регистрация отдельных компонентов в связи с элюцией пигмента в объемах выхода всех фракций. Поэтому для выделения протективного антигена мы использовали R-среду, а для выделения белков S-слоя – R-среду, обогащенную казаминовыми кислотами. Концентрированные на ультрафильтрах HLP10 и PM10 КФ оказались пригодными для фракционирования.

При фракционировании КФ штаммов *B. anthracis* СТИ, 81/1TR, Davies на сверхтонком сефакириле S-300 обращало внимание наличие сходных по м.м. белков, которые элюировались в свободном объеме – фракция 1. Профиль хроматограмм трех культуральных фильтратов обусловлен межштаммовыми различиями *B. anthracis*, одним из которых может быть содержание в штамме плазмид вирулентности (рис. 1).

Для КФ бесплазмидного штамма *B. anthracis* 81/1TR белок ФР1 был доминирующим. Белки других фракций содержались в незначительном количестве и выявлялись непостоянно. При разделении 15 мл этого КФ с концентрацией белка 10,9 мг/мл получена фракция 1 объемом 11 мл с концентрацией белка 1,2 мг/мл. Для КФ капсулообразующего штамма *B. anthracis* Davies доминирующими также были белки ФР1, которые элюировались в виде трех не разделившихся пиков. Кроме белков ФР1, в КФ *B. anthracis* Davies содержались белки меньшей м.м., которые в отличие от КФ *B. anthracis* 81/1TR постоянно регистрировались в виде фракций 2, 3, 4, 6. При разделении 15 мл КФ *B. anthracis* Davies с концентрацией белка 12,8 мг/мл получали 10,5 мл ФР1 с концентрацией белка 1,2 мг/мл. Выход белков ФР1 КФ *B. anthracis* СТИ был значительно ниже, чем фракций 1 КФ *B. anthracis* Davies и *B. anthracis* 81/1TR. С увеличением посевной дозы до $1 \cdot 10^4$ – $1 \cdot 10^5$ м.к./мл выход белка ФР1 КФ *B. anthracis* СТИ увеличивался более чем в 2 раза. Из 15 мл КФ *B. anthracis* СТИ с концентрацией белка 10,5 мг/мл (посевная доза $1 \cdot 10^3$ м.к./мл) и 12,5 мг/мл (посевная доза $2 \cdot 10^4$ м.к./мл) получали по 10 мл ФР1 с концентрацией белка соответственно 0,110 и 0,280 мг/мл. Фракция 3 КФ *B. anthracis* СТИ элюировалась в объеме ферритина (м.м. 440 кДа) [9]. Концентрация белка во ФР3 КФ *B. anthracis* СТИ существенно не зависела от посевной дозы и составила, соответственно, 0,750 мг/мл и 0,780 мг/мл.

Особенностью КФ токсинпродуцирующего штамма *B. anthracis* СТИ было наличие в нем доминирующего белка, который элюировался как ФР5. По объему выхода маркерных белков и биологическим свойствам ФР5 охарактеризована как протективный антиген [2]. Выход белков ФР5 существенно не зависел от посевной дозы. Концентрация белка в исходном КФ составила 1,5 мг/мл при посевной дозе $1 \cdot 10^3$ и 1,7 мг/мл при посевной дозе $2 \cdot 10^4$ м.к./мл. По-

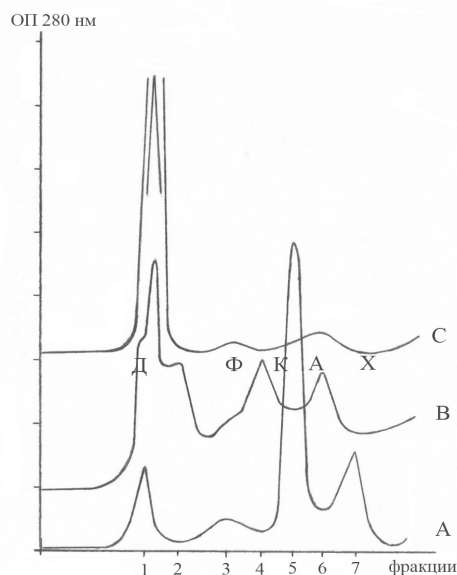


Рис. 1. Хроматограммы культуральных фильтратов штаммов *B. anthracis*:

А – культуральный фильтрат *B. anthracis* СТИ; В – культуральный фильтрат *B. anthracis* Davies; С – культуральный фильтрат *B. anthracis* 81/1 TR. Объем геля 2×72 см; объемы культуральных фильтратов, наносимых на гель, 2,5 мл; скорость элюирования 25 мл/ч, объем одной пробирки 1 мл. Элюирование маркеров: Д – декстран голубой (81 проб.), Ф – ферритин (114 проб.), К – каталаза (128 проб.), А – альбумин бычий (141 проб.), Х – химотрипсиноген (165 проб.).

лученные результаты подтвердили целесообразность использования для выделения ПА посевной дозы $1 \cdot 10^3$ м.к./мл, которая обуславливала преимущественное содержание его в КФ относительно других белков, продуцируемых *B. anthracis* СТИ.

Для получения сывороток использованы фракции 1, поскольку сыворотка к фракции 1 КФ *B. anthracis* СТИ характеризовалась видоспецифичностью и позволяла идентифицировать штаммы *B. anthracis* в РИДРК [2].

При изучении специфичности сывороток в РИДРК установлено, что сыворотка к ФР1 КФ *B. anthracis* СТИ реагировала с антигеном, не идентичным антигену, выявляемому сыворотками к ФР1 КФ *B. anthracis* 81/1TR и Davies, а также сывороткой к ФР3 КФ *B. anthracis* СТИ (рис. 2). Это свидетельствовало о наличии в КФ белков с одинаковой молекулярной массой, но с различными антигенными свойствами, а также белков с различной молекулярной массой, но с одинаковыми антигенными свойствами [11].

Электрофоретический анализ показал, что культуральные фильтраты *B. anthracis*, 81/1TR, Davies и экстракт клеток *B. anthracis* СТИ содержали преимущественно белки с м.м. 94 кДа, характерной для белков S-слоя. Культуральный фильтрат *B. anthracis* СТИ содержал преимущественно белок с м.м. 84 кДа, характерной для протективного антигена, а также белки м.м. 51, 41, 22 кДа, которые, возможно, являются фрагментами протективного антигена, образовавшимися в результате действия собственных протеаз микроорганизма (рис. 3) [5].

В иммуноблоттинге сыворотки к белкам фракций 1 культуральных фильтратов бесплазмидного и токсинпродуцирующего штаммов выявляли белки м.м. 94 кДа, характерной для белков S-слоя, которые выделены из культуральных фильтратов (белок Sap) [4, 9] и экстрагированы из клеток (белок EA1) [8]. Следовательно, культуральные фильтраты и экстрак-

ты клеток содержали оба белка S-слоя.

Это позволяет предположить, что основным белком фракции 1 КФ штамма *B. anthracis* 81/1TR является белок Sap, а *B. anthracis* СТИ – EA1, так как в рХО1⁺ штаммах белок EA1 является основным антигеном S-слоя, так как ген *atxA* плазмиды рХО1 репрессирует ген *sap*. В рХО1⁻ и бесплазмидных штаммах репрессия гена *sap* исключается, что приводит к резкому увеличению продукции белка Sap [13].

Сыворотка к фракции 5 токсинпродуцирующего штамма выявляла белок м.м. 84 кДа, отсутствовавший в экстрактах клеток штаммов *B. anthracis* СТИ, 81/1TR, а также белки м.м. 94 кДа, которые при электрофорезе в культуральном фильтрате *B. anthracis* СТИ практически не определялись. Это свидетельствовало о содержании в сыворотке антител к ПА и к белкам S-слоя (рис. 3).

В РИДРК с изогенными штаммами *B. anthracis* сыворотки к белкам фракций 1 культуральных фильтратов бесплазмидного и токсинпродуцирующего штаммов выявляли сибиреязвенные антигены, продукция которых не зависела от плазмид вирулентности. Синтез белков S-слоя детерминирован хромосомными генами, что не исключало принадлежность белков фракций 1 к антигенам S-слоя [13].

Меченные ФИТЦ иммуноглобулины сывороток к фракциям 1 КФ *B. anthracis* 81/1TR, СТИ, Davies в разведении 1:16 – 1:32 окрашивали вегетативные клетки и споры *B. anthracis* 81/1. Специфическое окрашивание вегетативных клеток и спор подтверждало принадлежность выявляемых антигенов к поверхностным структурам, одной из которых может быть белок EA1. Хотя белок EA1 не является антигеном спор, он может присутствовать в препаратах

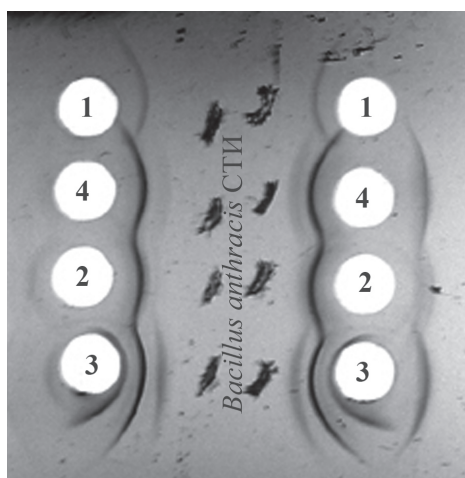


Рис. 2. РИДРК антигенов *B. anthracis* СТИ с сыворотками к фракциям культуральных фильтратов штаммов *B. anthracis*:

1, 2, 3 – соответственно сыворотки к фракциям 1 культуральных фильтратов *B. anthracis* СТИ, 81/1TR, Davies; 4 – сыворотка к фракции 3 культурального фильтрата *B. anthracis* СТИ

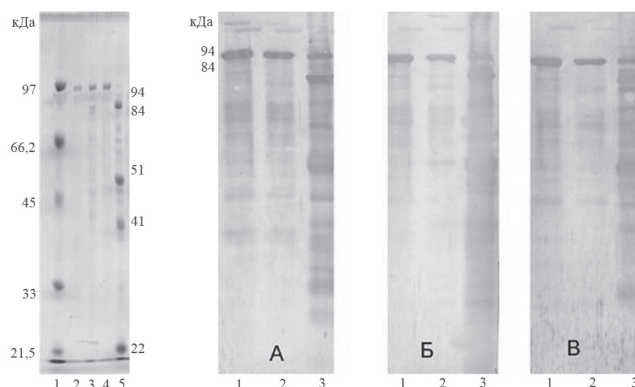


Рис. 3. Электрофорез и иммуноблоттинг белков культуральных фильтратов:

Электрофорез: 1 – маркеры (97 кДа – фосфорилаза В; 66,2 кДа – бычий сывороточный альбумин; 45 кДа – овалбумин; 33 кДа – карбоангидраза; 21,5 кДа – ингибитор трипсина); 2 – экстракт клеток *B. anthracis* СТИ. Белки культуральных фильтратов штаммов: 3 – *B. anthracis* Davies; 4 – *B. anthracis* 81/1TR; 5 – *B. anthracis* СТИ. Иммуноблоттинг: А – с сывороткой к фракции 5 культурального фильтрата *B. anthracis* СТИ; Б – с сывороткой к фракции 1 культурального фильтрата *B. anthracis* 81/1 TR; В – с сывороткой к фракции 1 культурального фильтрата *B. anthracis* СТИ. 1 – экстракт клеток *B. anthracis* 81/1 TR; 2 – экстракт клеток *B. anthracis* СТИ; 3 – белки культурального фильтрата *B. anthracis* СТИ

спор как постоянный контаминант [15].

Таким образом, штаммы *B. anthracis* с разным содержанием плазмид вирулентности при выращивании в питательной R-среде, обогащенной казаминовыми кислотами, продуцировали идентичные по молекулярной массе белки, которые при фракционировании культуральных фильтратов на сефакиле S-300 элюировались в свободном объеме. Сыворотки к этим белкам содержали антитела к антигенам, продукция которых не зависела от плазмид вирулентности, реагировали с поверхностными структурами вегетативных клеток, с белками с м.м. 94 кДа культуральных фильтратов и клеточных экстрактов, что явилось основанием считать выделенные белки антигенами S-слоя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барков А.М., Липницкий А.В., Евтеева Е.В. Способ получения сыворотки для идентификации возбудителя сибирской язвы. Патент на изобретение № 2191603 от 27.10. 2002 г.
2. Баркова И.А., Липницкий А.В., Барков А.М., Евтеева Е.В. Использование иммуноглобулинов к отдельным внеклеточным антигенам *Bacillus anthracis* СТИ для идентификации сибиреязвенного микроба. Биотехнология. 2005; 2:91–5.
3. Ермакова И.А., Липницкий А.В., Барков А.М., Евтеева Е.В. Способ выделения высокомолекулярного соматического сибиреязвенного антигена. Патент на изобретение № 2230570 от 20.06.2004 г.
4. Мишкис Н.И., Корсакова А.Ю., Болотникова М.Ф. и др. Продукция белков S-слоя штаммами *Bacillus anthracis*. Биотехнология. 2004; 5:22–3.
5. Носков А.Н., Кравченко Т.Б., Носкова В.П. Выявление функционально-активных доменов в молекулах протективного антигена и летального фактора сибиреязвенного экзотоксина. Вестник РАМН. 1997; 6:20–4.
6. Шаханина К.Л. Приготовление люминисцирующих антител. Иммунология в медицине. Под ред. Левиной Е.Н. М.: Медицина; 1977. 237 с.
7. Chittaru T., Gat O. Differential proteomic analysis of the *Bacillus anthracis* secretome: distinct and chromosome CO₂-dependent cross talk mechanisms modulate extracellular proteolytic activities. J. Bacteriol. 2006; 188(10):3551–71.
8. Ezzel J., Abshire T. Immunological analysis of cell associated antigens of *Bacillus anthracis*. Infect. Immun. 1988; 56:349–56.
9. Farchaus J.B., Ribot W.J., Downs M., Ezzel J.W. Purification

and Characterization of the major surface array protein from the avirulent *Bacillus anthracis* Delta Sterne-1. J. Bacteriol. 1995; 177(9):2481–9.

10. Green B.D., Laurie Battisti, Kochler T.M. et al. Demonstration of capsule in *B. anthracis*. Infect. Immun. 1985; 49(2):291–7.
11. Lamonica J.M., Wagner M.A., Echenbrenner M. Comparative secretome analyses of the *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents. Infect. Immun. 2005; 73(6):3646–58.
12. Mignot T., Mesnage S., Counture-Tosi E. et al. Developmental switch of S-layer protein synthesis in *Bacillus anthracis*. Mol. Microbiol. 2002; 43:1615–28.
13. Mignot T., Mock M., Fouet A. A plasmid-encoded regulator couples the synthesis of toxin and surface structures in *Bacillus anthracis*. Mol. Microbiol. 2003; 47(4):917–27.
14. Ristroph J.D., Ivins B. Elaboration of *Bacillus anthracis* antigens in new, defined culture medium. Infect. Immun. 1989; 57(1):483–6.
15. Williams D., Turnbough C. Surface layer protein EA1 is not a component of *Bacillus anthracis* spores but is a persistent contaminant in spore preparations. J. Bacteriol. 2004; 186(2):566–9.

I.A.Barkova, V.V.Alexeev, A.V.Lipnitsky, A.M.Barkov, L.V.Bukhantsova

Production of S-layer proteins by Different *Bacillus anthracis* Strains

Volgograd Research Anti-Plague Institute

Investigated were antigenic properties of proteins produced by *B. anthracis* strains STI (pXO1⁺, pXO2⁺), Davies (pXO1⁺, pXO2⁺), 81/1TR (pXO1⁺, pXO2⁺), eluted in void volume (fraction 1) at division of cultural filtrates (CF) on superfine sefacyl S-300. Sera to fractions 1 of *B. anthracis* STI, 81/1TR and Davies CF were shown to contain antibodies to different antigens. The proteins identified with the help of sera were referred to antigens of *B. anthracis* S-layer relating on м.м. 94 kDa, characteristic for S-layer proteins, localization on superficial cell structure, and independence of their production from virulence plasmids.

Key words: *B. anthracis*, virulence plasmids, cultural filtrates, gel chromatography, S-layer proteins.

Об авторах:

Баркова И.А. (н.с.), Алексеев В.В. (директор), Липницкий А.В. (зам. директора), Барков А.М. (с.н.с.), Буханцова Л.В. (н.с.). Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. 400131, Волгоград, ул. Голубинская, д. 7. Тел.: (844-2) 37-33-65. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 10.07.08.

А.А.Григорьев¹, И.В.Борисевич¹, И.В.Дармов¹, В.П.Бондарев¹, С.Л.Кузнецов¹, А.В.Миронин¹,
И.П.Погорельский¹, А.В.Летаров², Е.Е.Куликов², А.А.Манькин³

ВЫДЕЛЕНИЕ И СВОЙСТВА ТУЛЯРЕМИЙНОГО БАКТЕРИОФАГА ГАЛ

¹ФГУ «48 Центральный научно-исследовательский институт МО РФ», Киров;

²Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН, ³Научно-исследовательский институт вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН, Москва

Впервые выделен умеренный туляремиальный бактериофаг из органов морской свинки, инфицированной живой культурой туляремиального вакцинного штамма № 15 линии НИИЭГ. Установлено, что негативные колонии бактериофага до 2,0 мм в диаметре с зоной неполного лизиса по периферии. По результатам электронной микроскопии бактериофаг представляет собой корпускулы нитевидной формы. Бактериофаг лизирует бактерии возбудителей туляремии трех подвидов, а также основных видов возбудителей болезни легионеров. Простота использования выделенного бактериофага позволяет рекомендовать новый туляремиальный бактериофаг ГАЛ для применения на практике.

Ключевые слова: туляремия, умеренный туляремиальный бактериофаг, свойства, диагностика.

В настоящее время заболевания туляремией регистрируются в виде спорадических случаев или эпидемических вспышек разной интенсивности. Число случаев туляремии в последнее десятилетие колеблется от 100 до 400 в год, при этом около 75 % заболеваний зарегистрировано в трех регионах Российской Федерации: Северном, Центральном и Западно-Сибирском. Характерной особенностью заболеваемости последних лет является существенное увеличение доли больных среди жителей городов (до 75 % от общего числа случаев). Периодически, примерно с десятилетним интервалом, возникают подъемы эпизоотической активности, которые зачастую сопровождаются эпидемическими осложнениями [11].

Современное состояние природных очагов туляремии в Российской Федерации вызывает определенную настороженность у эпидемиологов. Так, в 2005 г. В Российской Федерации зарегистрирован 881 случай заболевания людей туляремией (уровень заболеваемости составил 0,60 на 100 тыс. населения). Этот показатель в 6,78 раза превышает уровень заболеваемости в аналогичный период предыдущего года [7]. Сроки установления окончательного диагноза у лиц с подозрением на данное заболевание были весьма длительными в связи с поздним обращением больных и значительной продолжительностью лабораторных исследований. В большинстве случаев диагноз туляремии поставлен ретроспективно на основании результатов иммунологических тестов [2].

Повышение заболеваемости людей туляремией свидетельствует об активизации природных очагов и уменьшении иммунной прослойки среди населения.

Напряженная эпидемическая обстановка, сложившаяся в последнее время в РФ по ряду инфекционных заболеваний, включая туляремию, и неблагоприятный прогноз ее развития на ближайшие годы, диктуют необходимость совершенствования средств их диагностики.

В настоящее время используются в диагностике

туляремии бактериологические, иммунологические и молекулярно-генетические методы исследования. Вместе с тем следует отметить, что в схеме лабораторной диагностики большинства особо опасных заболеваний бактериальной природы используются специфичные бактериофаги, позволяющие в короткие сроки и с высокой степенью достоверности идентифицировать выделенную микробную культуру.

Отсутствие подобного препарата для диагностики туляремии существенно снижает эффективность противоэпидемических и лечебно-профилактических мероприятий.

До настоящего времени вопрос о наличии у возбудителя туляремии специфического бактериофага оставался открытым. Проведенный нами патентный поиск по фондам описаний изобретений России и ведущих зарубежных стран показал отсутствие данных о фактах обнаружения и способах выделения туляремиального бактериофага.

Мнения исследователей о наличии бактериофага у туляремиального микроба неоднозначны. Одни авторы утверждают, что у франциселл нет собственных фагов [5], а другие приводят данные об обнаружении феномена бактериофагии у туляремиального микроба [8]. Обстоятельное исследование этого феномена туляремиального микроба выполнила О.С.Емельянова [6, 10]. По заключению автора, обнаруженный литический агент относится к умеренным фагам. Однако выделить и изучить туляремиальный бактериофаг авторам не удалось.

Туляремия считается труднодиагностируемой инфекцией, несмотря на внедрение в практику лабораторных исследований ряда современных иммунологических и молекулярно-генетических методов. Эффективность диагностических мероприятий могла бы быть существенно повышена за счет использования специфического туляремиального бактериофага.

Целью настоящей работы явилось выделение туляремиального бактериофага и изучение его основных морфологических и физиологических свойств.

Материалы и методы

Бактериофаг выделен из органов морской свинки методом обогащения с «подсевом». Инфицированных живой культурой туляремиального вакцинного штамма № 15 линии НИИЭГ лабораторных животных усыпляли хлороформом через 6–14 сут после их заражения. Гомогенаты из паренхиматозных органов эвтаназированных животных заливали небольшим количеством забуференного физиологического раствора NaCl (рН 7,0) и фильтровали через свечу Шамберлана. Полученные фильтраты вносили во флаконы с односуточной культурой *Francisella tularensis* штамма № 15 линии НИИЭГ, выращивали в статических условиях при температуре от +36 до +38 °С в течение 48 ч. Затем каждый флакон инокулировали 0,1 см³ суспензии агаровой культуры *F. tularensis*, выращенной на FT-агаре, содержащей 1·10⁹ КОЕ см⁻³ по стандартному образцу мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича. В качестве жидкой питательной среды использовали бульон на основе ферментативного гидролизата мяса, разведенного дистиллированной водой до содержания аминного азота 145–155 мг%·дм⁻³ с добавлением на 1,0 дм³ 0,5 г NaCl; 1,0 г Na₂HPO₄·12H₂O; 0,2 г KCl; 0,25 г дрожжевого экстракта; 0,5 г L-цистеина.

После 3–15 сут инкубирования при температуре 36–38 °С в статических условиях культуры фильтровали через нитроцеллюлозный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Фильтраты проверяли на присутствие в них туляремиального бактериофага по методу агаровых слоев Грация [4, 9] с предварительным инкубированием смеси (фаг и культура) в термостате при температуре 36–38 °С в течение 20 мин. Спектр литического действия, адсорбционную способность, продолжительность латентного периода внутриклеточного развития выделенного фага, средний урожай фаговых частиц на одну инфицированную клетку определяли методом М.Адамса [1]. Тепловую инактивацию проводили путем нагревания суспензии бактериофага в 0,1 М фосфатном буфере в термостате на водяной бане. Для электронно-микроскопических исследований препараты готовили путем адсорбции бактериофагов на поверхности сеток, покрытых формваровой подложкой, укрепленной углеродом и деионизированной непосредственно перед употреблением. Время адсорбции составляло 10 мин. Препараты контрастировали 1,0 % водным раствором уранилацетата в течение 30 с, после чего промывали на каплях воды и высушивали. Препараты просматривали на микроскопе Jeol 100S при увеличении ×30000. Экспериментальные исследования выполняли с соблюдением Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных. Для получения антифаговой сыворотки были использованы кролики массой от 3 до 5 кг. Иммунизацию проводили по методу М.Адамса [1]. Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами с использованием критерия Стьюдента ($p < 0,05$) [3].

Результаты и обсуждение

При посеве фильтрата методом агаровых слоев туляремиальный бактериофаг формировал мутные, с нечетким неровным краем округлые негативные колонии, а также колонии с прозрачным центром и зоной неполного лизиса по периферии, диаметр которых не превышал 2,0 мм. Мутные негативные колонии (НК) имели следы роста индикаторной культуры (рис. 1). Выделение «чистой» линии бактериофага проводили путем многократных пересевов из изолированных НК без признаков вторичного роста бактерий.

Такой методический подход позволил получить «чистую» линию фага, который формировал негативные колонии на двухслойном FT-агаре, приготовленном по методу Грация, с индикаторной культурой *F. tularensis* штамма № 501. Туляремиальный бактериофаг через 48 ч инкубирования при температуре 36–38 °С образовывал прозрачные колонии округлой формы с относительно ровным краем до 2,0 мм в диаметре, но при микроскопии на дне НК выявлялся слабовыраженный рост индикаторной культуры. Нанесение фаговой суспензии на газон индикаторной культуры по методу Отто [9] вызвало через 48 ч термостатирования при температуре 36–38 °С образование зоны специфического лизиса в виде «стерильного» пятна или четко контурируемого мутного пятна, или группы мелких негативных пятен.

Адсорбция фага индикаторными бактериями в жидкой среде составляла не менее 90 %. Продолжительность латентного периода равна 4 ч. Средний выход фага из одной инфицированной клетки составляет 10±3 корпускул. При иммунизации кроликов суспензий бактериофага с адьювантом Фрейнда образовывались специфические антитела. Полученная антифаговая сыворотка в разведении 1:100 инактивировала не менее 90 % бактериофага.

Фаг термолабилен. Инактивация начинается при температуре 50 °С, а полное разрушение происходит после инкубации при температуре 55 °С в течение 30 мин.

При посевной дозе 1·10⁶ КОЕ в 1,0 см³ односуточной агаровой культуры и множественности инфекции 0,010–0,001 в течение 24–36 ч инкубирования при температуре 36 °С накапливалось

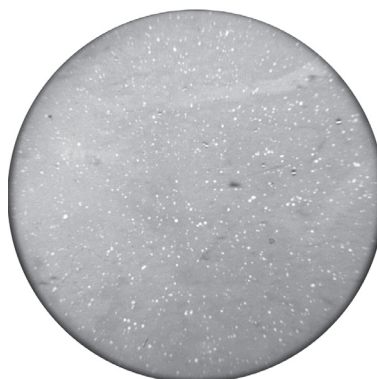


Рис. 1. Негативные колонии туляремиального бактериофага ГАЛ

до $1 \cdot 10^4$ БОЕ·см⁻³.

Изучение ультраструктуры туляремийного фага показало, что он относится к первой морфологической группе вирусов бактерий по классификации А.С.Тихоненко [13]. По результатам электронной микроскопии бактериофаг представляет собой корпускулы нитевидной формы толщиной до 20 нм и длиной до 400 нм (рис. 2). Тип нуклеиновой кислоты – ДНК, молекулярная масса 20 кв.

Бактериофаг лизирует бактерии возбудителей туляремии трех подвидов (средне-азиатского, неарктического и голарктического), а также основных видов возбудителей болезни легионеров (*Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffii*). Бактериофаг не оказывает литического действия на *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae* eltor, *Bacillus anthracis*, *Brucella abortus*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus* и *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei* и *Shigella flexneri*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Listeria monocytogenes*.

Важно отметить, что выделенный фаг не способен лизировать бактерии *Francisella novicida* – близкородственного по отношению к *F. tularensis* микроба.

Лизирующее действие туляремийного бактериофага в отношении легионелл определяли с использованием питательной среды на основе BCYE (a)-агара, так как последние, в отличие от туляремийного микроба, не растут на FT-агаре. Эти отличительные ростовые характеристики уже на этапе индикации позволяют дифференцировать возбудитель туляремии и легионеллеза.

В результате проведенных исследований впервые выделен штамм туляремийного бактериофага, обладающий специфической литической активностью в отношении *F. tularensis* и основных видов болезни легионеров. Бактериофаг депонирован в коллекции фагов ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России» под обозначением ГАЛ. Интерпретируя обнаружен-

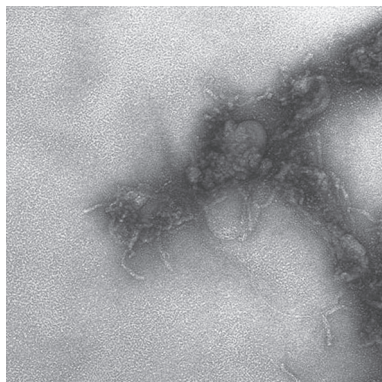


Рис. 2. Корпускулы туляремийного бактериофага ГАЛ. Контрастирование уранилацетатом. $\times 3000$

ную у туляремийного бактериофага способность лизировать бактерии основных видов возбудителя легионеллеза, необходимо отметить, что противотуляремийная сыворотка в некоторых случаях также дает «перекрест» в серологических реакциях с антигеном возбудителя болезни легионеров [12]. По-видимому, на поверхности клеточных оболочек всех названных микроорганизмов имеются близкие по антигенной специфичности рецепторы, обеспечивающие начальные этапы литического процесса при использовании фага ГАЛ в максимальных концентрациях. Природа обнаруженного явления, возможно, обусловлена тесным филогенетическим родством данных микроорганизмов.

Необходимо отметить, что имевшие место ранее неудачные попытки выделения туляремийного бактериофага обусловлены, на наш взгляд, его чувствительностью к L-цистеину. При этом возбудитель туляремии отличается высокой требовательностью к составу искусственных питательных сред, и обязательным и незаменимым компонентом жидких и плотных питательных сред для выращивания туляремийных бактерий является L-цистеин. Известно, что L-цистеин оказывает прямое фагоцидное действие на свободные бактериофаги [4]. Для уменьшения прямого противофагового действия L-цистеина нами был использован модифицированный двухслойный метод Грациа, включающий предварительную инкубацию смеси (фаг и культура) в термостате, в процессе которой, по-видимому, происходит необратимая адсорбция фаговых частиц на поверхности туляремийных бактерий. В таких условиях L-цистеин, обладающий фагоцидными свойствами, в меньшей степени воздействует на бактериофаг, связанный с бактериальной клеткой, и не подавляет репродукцию фага внутри туляремийных бактерий.

В настоящее время, несмотря на использование новейших диагностических методов, основное значение при лабораторной диагностике туляремии придается бактериологическим исследованиям, поскольку только выделение культуры *F. tularensis* является бесспорным доказательством заболевания. Все остальные методы, будь то иммунологические, молекулярно-генетические, пригодны лишь для постановки предварительного или ретроспективного диагноза.

Простота использования выделенного бактериофага позволяет рекомендовать его для применения на практике. Использование бактериофага ГАЛ в комплексе с другими методами лабораторной диагностики позволит повысить информативность анализа и, следовательно, улучшить качество лабораторной диагностики туляремии.

Таким образом, в ходе многолетнего поиска впервые удалось выделить умеренный туляремийный бактериофаг ГАЛ и разработать способ его получения. Диагностический бактериофаг ГАЛ может быть использован в научных и практических лабораториях, занимающихся индикацией и идентификаци-

ей возбудителя туляремии, выделяемого из организма больного и контаминированных объектов внешней среды, а также для изучения физиологических свойств и поверхностных структур штаммов туляремиального микроба.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамс М. Бактериофаги. М.: 1961.
2. Антонов А.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика туляремии в Краснодарском крае Медицинская микробиология – XXI век. Матер. Всерос. науч.-практ. конф. Саратов; 2004. С. 23–4.
3. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз; 1963.
4. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. М.: Медгиз; 1961.
5. Домарадский И.В. Проблемы патогенности франциселл и пути их решения. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 1:106–11.
6. Емельянова О.С. О туляремиальном бактериофаге. Пробл. особо опасных инф. 1971; 3(19):202–6.
7. Здоровье населения и среда обитания. Информ. бюл. 2005; 12(153).
8. Колядицкая Л.С., Кучина К.В., Шмурыгина А.Г. О туляремиальном бактериофаге Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1959; 3:13–6.
9. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: 1978.
10. Олсуфьев Н.Н. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: 1975.
11. Приказ МЗ РФ № 125 от 14.04.1999 г.
12. Прозоровский С.В., Покровский В.И., Тартаковский И.С. Болезнь легионеров. М.: Медицина; 1984.
13. Тихоненко А.С. Ультраструктура вирусов бактерий. М.: 1968.

A.A.Grigor'ev, I.V.Borisevich, I.V.Darmov, V.P.Bondarev, S.L.Kuznetsov, A.V.Mironin, I.P.Pogorelsky, A.V.Letarov, E.E.Koulikov, A.A.Manykin

Isolation of GAL Tularemia Bacteriophage and its Characteristics

Russian Ministry of Defense 48 Research Institute, Kirov;
S.N.Vinogradsky Institute of Microbiology,
D.I.Ivanovsky Research Institute of Virology, Moscow

Temperate tularemia bacteriophage was for the first time isolated from the organs of guinea-pig infected with live tularemia vaccine strain N 15 of RIEH line. Negative colonies of bacteriophage were up to 0.2 mm in diameter with incomplete lysis zone at the periphery. In view of the results of electronic microscopy bacteriophage represented filamentous carpuscules. Bacteriophage lyzed bacteria of three subtypes of tularemia etiological agent and bacteria of the main species of legionellosis etiological agents. The simple use of bacteriophage allows to recommend new tularemia bacteriophage GAL for practical application.

Key words: tularemia, temperate tularemia bacteriophage, characteristics, diagnostics.

Об авторах:

Григорьев А.А. (нач. лаб.), Борисевич И.В. (нач. института), Дармов И.В. (зам. нач. института), Бондарев В. П. (нач. филиала), Кузнецов С.Л. (нач. отд.), МIRONIN А.В. (нач. отд.), Погорельский И.П. (вед.н.с.). 48 НИИ Минобороны России. Киров.

Летаров А.В. (зав. лаб.), Куликов Е.Е. (с.н.с.). Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН. 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2. Тел.: (499) 135-21-39. E-mail: inmi@inmi.host.ru

Манькин А.А. (н.с.). НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН. 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16. Тел.: (495) 190-28-74. E-mail: info@virology.ru

Поступила 22.05.08.

И.А.Кузьмиченко, М.Н.Киреев, О.В.Громова, В.С.Бронникова, С.А.Нижегородцев

ГИДРОЛИЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ПРОТЕАЗЫ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА – ПРОТЕОВИБРИНА ПО ОТНОШЕНИЮ К БЕЛКОВЫМ СУБСТРАТАМ

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

Описан способ получения низкомолекулярного ферментного комплекса холерного вибриона – протеовибрина с высокой протеолитической активностью, показано его преимущественное накопление в ультрафильтрате культуральной жидкости производственного штамма М41. По протеолитической активности в отношении ряда белковых субстратов протеаза протеовибрина не уступает коммерческому трипсину и может быть использована для приготовления ферментализатов.

Ключевые слова: холерный вибрион, ультрафильтрат культуральной жидкости, ферментный комплекс протеовибрина, протеолитическая активность.

При получении О-антигенного компонента вакцины холерной бивалентной химической из центрифугата формализированной культуральной жидкости производственного штамма *Vibrio cholerae* М41 серовара Огава с помощью концентрирующей мембранной технологии [1] накапливается побочный продукт производственного цикла – ультрафильтрат. Нами было установлено, что он содержит комплекс низкомолекулярных биологически активных ферментов, среди которых преобладают протеаза, фосфолипаза А₂ и С [2]. В настоящей работе мы остановили внимание на одном из них – протеазе. По нашим данным [3], штамм М41 отличается от других штаммов холерного вибриона, выращиваемых глубинным способом в производственных целях, значительно более высокой протеолитической активностью. Она появляется в культуральной жидкости к 7 ч инкубации, и в дальнейшем ее удельная активность, рассчитанная на 100 млрд м.к., нарастает до окончания выращивания (10 ч), в то время как у других производственных штаммов она падает. Существенно, что в процессе длительной (до 30 сут) детоксикации культуральной жидкости штамма М41 формальдегидом, проводимой в соответствии с регламентом производства холерной вакцины, протеолитическая активность в ней не снижается. На всех последующих после детоксикации этапах получения О-антигенного компонента вакцины протеолитическая активность присутствует как в сконцентрированном полуфабрикате, так и в ультрафильтрате. Представляло интерес выяснить, насколько полно протеолитический фермент из культуральной жидкости поступает в ультрафильтрат и может ли данная низкомолекулярная протеаза быть использована для гидролитического расщепления различных белковых субстратов. В качестве фермента сравнения использован коммерческий трипсин.

Материалы и методы

Штамм *Vibrio cholerae* М41 серовара Огава выращивали глубинным способом в реакторе на бульоне из ферментативного гидролизата казеина (рН 7,6) в течение 10 ч при 37 °С. В опытах использовали ма-

териал из 4 реакторов с объемом питательной среды 250 л каждый. Центрифугат детоксицированной культуральной жидкости подвергали ультрафильтрации на волоконном аппарате марки УВА-ПС-20-1040 (ВНИИ полимерных волокон, Мытищи, Московской обл.) с шестью последовательно соединенными колонками, что позволяло концентрировать полуфабрикат – высокомолекулярный О-антиген до относительно небольшого объема (25 л). Объем ультрафильтрата составлял в среднем 220 л. Ферментный комплекс выделяли из ультрафильтрата после повторного цикла концентрирующей ультрафильтрации на волоконном аппарате марки УВА-ПС-17-1040 с меньшей пропускной способностью волокон. Из повторно сконцентрированного ультрафильтрата с объемом около 10 л низкомолекулярные белки осаждали серноокислым аммонием до 80% насыщения. После диализа и упаривания жидкий ферментный комплекс, названный нами протеовибрином, с содержанием белка (18±2) мг/мл длительно (в течение года) без потери активности хранили при -20 °С либо лиофилизировали и хранили при +4 °С, в сухом препарате содержание белка составляло (55±4) %. Белок определяли по Лоури; в пробах, где присутствовала питательная среда – после предварительного осаждения трихлоруксусной кислотой (ТХУ). Наличие О-антигена определяли в реакции иммунодиффузии с сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной (РосНИПЧИ «Микроб»).

Протеолитическую активность на этапах получения препарата определяли на плотной тест-среде с обезжиренным молоком в стандартной постановке. За условную единицу активности принимали максимальное разведение препарата с известным содержанием белка, дающее за 20 ч инкубации при 37 °С зону просветления 2 мм [4]. Удельную активность выражали количеством условных единиц на 1 мг белка препарата.

Протеолитическую активность в присутствии различных белковых субстратов определяли спектрофотометрически при 280 нм по накоплению продуктов, неосаждаемых ТХУ (преимущественно тирозина) [6]. Активность выражали в мкг тирозина,

отщепленного на 1 мг белка/ч. В качестве фермента сравнения использовали трипсин (Serva), активность которого после определения на тест-среде с молоком приводили путем разведения в соответствие с активностью протеазы протеовибрина.

В качестве субстратов использовали казеин, овальбумин, желатину, белки крови – гемоглобин и фибрин лошади, фибриноген человека, сывороточный альбумин быка и человека, белки сои. Последние были взяты в виде суспензии соевой муки.

Статистическую обработку данных проводили общепринятыми методами.

Результаты и обсуждение

Для оценки степени перехода протеазы через селективный барьер волокон в процессе ультрафильтрации культуральной жидкости получены данные о распределении белка и активности фермента между разделяемыми фазами (табл. 1).

Как видно из табл. 1, количество белка на весь объем культуральной жидкости превышает его суммарное содержание в двух других препаратах, что может быть связано с частичной сорбцией белка на волокнах. При разделении основная масса белка остается в концентрате, в ультрафильтрат переходит около 25 % всего растворимого белка. В то же время очевидно, что удельная активность протеазы в ультрафильтрате значительно превышает таковую в концентрате, поэтому с учетом большого объема ультрафильтрат после дополнительного концентрирования может служить источником получения фермента.

Существенно, что сам процесс ультрафильтрации служит способом первичной очистки препарата, отсекая молекулы с молекулярной массой свыше 35–40 кДа, в том числе О-антиген. Нами в РИД с О-сывороткой не обнаружено присутствие О-антигена в сконцентрированном ультрафильтрате.

Ферментный комплекс протеовибрин, полученный из ультрафильтрата традиционным способом высаливания сульфатом аммония, имел удельную активность протеазы на тест-среде (16000 ± 2000) усл. ед./мг белка при pH 7,2. Результаты по определению протеолитического гидролиза различных белковых субстратов представлены в табл. 2.

Таблица 1

Содержание белка и протеолитическая активность в препаратах, полученных при ультрафильтрации культуральной жидкости

Препарат	Объем, л	Содержание белка		Удельная активность протеазы, усл. ед./мг белка
		г/л	на весь объем, г	
Культуральная жидкость	250	0,263	65,8	2066
Концентрат О-антигена	25	1,62	40,5	155
Ультрафильтрат	220	0,073	16,1	2700

Примечание. Даны средние значения по 4 реакторам.

Все перечисленные субстраты протеовибрин расщеплял с различной степенью интенсивности, при этом наибольшая активность выявлена в отношении белков крови животных и человека. Характерно, что фибрин крови лошади после денатурации нагреванием становится значительно более доступен для протеолитического воздействия. Коммерческий трипсин в отличие от протеазы протеовибрина не гидролизует овальбумин и белки сои. Последнее очевидно связано с содержанием в сое известного специфического ингибитора трипсина.

Что касается желатины, оценить ее гидролиз спектрофотометрически по накоплению тирозина не удалось, что возможно связано с низким содержанием последнего в самом белке. Поэтому мы сравнивали образцы по степени разжижения 4 % желатинового геля в столбиках в течение 2 ч при 37 °С при двукратном разведении препаратов. Полное разжижение происходило с протеовибрином в дозе 31 мкг белка/мл, с трипсином – 62 мкг белка/мл.

Таким образом, протеаза ферментного комплекса холерного вибриона – протеовибрина обладает активностью в отношении достаточно широкого спектра белковых субстратов, не уступая коммерческому трипсину, а для ряда субстратов и превосходя его. Следует отметить, что недавно охарактеризован спектр белков, гидролизующих очищенной гемагглютинин/протеазой холерного вибриона, синтезируемой рекомбинантным штаммом кишечной палочки [5]. Однако проводить какие-либо аналогии между этими протеазами можно будет лишь после дополнительного изучения свойств протеазы протеовибрина. На данном этапе способность последнего эффективно гидролизовать белки казеина, сои, фибрина лошади, являющегося отходом производства антирабического иммуноглобулина, указывает на возможность практического использования протеовибрина для получения ферментолитатов, пригодных в качестве основ микробиологических питательных сред.

Таблица 2

Ферментативный гидролиз различных белковых субстратов протеазой протеовибрина и трипсином

Субстрат	Протеаза протеовибрина	Трипсин
	Активность в мкг тирозина/мг белка/ч	
Казеин	178±21	535±64
Овальбумин	462±49	0
Гемоглобин крови лошади	1333±283	1334±211
Бычий сывороточный альбумин	796±62	647±59
Альбумин сыворотки человека	992±87	99±8
Фибриноген человека	419±38	127±19
Фибрин крови лошади, нативный	284±36	230±27
Фибрин крови лошади, денатурированный	782±71	764±82
Белки сои	631±52	0

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дятлов И.А., Нижегородцев С.А., Громова О.В., Васин Ю.Г., Бутов А.С., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Разработка ультрафильтрационной технологии получения О-антигена холерного вибриона для производства вакцин. Пробл. особо опасных инф. 2001; 2(82):133–9.
2. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Нижегородцев С.А., Балашова Е.В., Дятлов И.А., Киреев М.Н. Экзоферменты ультрафильтрата культуральной жидкости вакцинного штамма М41 холерного вибриона. В кн.: Холера: Матер. VIII Российск. науч.-практ. конф. по проблеме «Холера». Ростов н/Д; 2003. С. 229–30.
3. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Белякова Н.И. Активность ферментов в динамике глубинного роста производственных штаммов холерного вибриона О1 и О139 серогрупп. Пробл. особо опасных инф. 2003; 86:86–9.
4. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Киреев М.Н., Белякова Н.И., Клокова О.Д. Тест-среды для определения активности твиназы, протеазы и фосфолипазы в холерной химической вакцине и ее компонентах. Пробл. особо опасных инф. 2002; 1(83):115–9.
5. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Гончарова Л.А., Михась Н.К., Непомнящая Н.Б., Асеева Л.Е., Каграманов В.С. Клонирование и экспрессия гена гемагглютинин/протеазы (hpaA) *Vibrio cholerae* в *Escherichia coli*. Биотехнология. 2006; 6:8–15.
6. Покровский А.А., редактор. Биохимические методы исследования в клинике. М.: Медицина; 1969. С. 202–203.

I.A.Kuzmichenko, M.N.Kireev, O.V.Gromova, V.S.Bronnikova,
S.A.Nizhegorodtsev

**Hydrolyzing Ability of Protease
of Enzyme Complex of Cholera Vibrio that is Proteovibrin
for Protein Substrates**

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

The way of production of low-molecular weight enzyme complex of cholera vibrio (proteovibrin) with high proteolytic activity is described. Its prevailing accumulation in ultrafiltrate of cultural liquid of M41 production strain is shown. Proteovibrin protease doesn't yield to commercial trypsin in proteolytic activity as regards some protein substrates and can be used for enzymolysate preparation.

Key words: cholera vibrio, ultrafiltrate of cultural liquid, proteovibrin enzyme complex, proteolytic activity.

Об авторах:

Кузьмиченко И.А. (с.н.с.), Киреев М.Н. (зав. отд.), Громова О.В. (с.н.с.), Бронникова В.С. (химик-эксперт), Нижегородцев С.А. (зав. отд.). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 73-46-48. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 10.06.08.

Г.Н.Одинокоев, Г.А.Ерошенко, Н.А.Видяева, Я.М.Краснов, Н.П.Гусева, В.В.Кутырев

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *nar* ОПЕРОНА
У ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* РАЗНЫХ ПОДВИДОВ**

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

Проведен структурно-функциональный анализ генов *nar* оперона, кодирующего диагностически-значимый признак – редукцию нитратов, у *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов. Установлено, что причиной неспособности части штаммов основного подвида восстанавливать нитраты является наличие замены нуклеотида (G на T в позиции 613 п.н.) в гене *narA*. Другая замена – G на A в позиции 1021 п.н. гена *narA* не может служить причиной отсутствия этого диагностического признака у неосновных подвидов и у биовара *microtus*, поскольку встречается как у денитрифицирующих, так и неденитрифицирующих штаммов *Y. pestis*.

Ключевые слова: возбудитель чумы, основной и неосновные подвиды, нитратредукция, структурный ген, мутации.

Способность редуцировать нитраты является одним из важнейших дифференциально-диагностических признаков, лежащих в основе современных схем внутривидовой классификации *Yersinia pestis*. По существующей зарубежной классификации штаммы античного (*antiqua*) и восточного (*orientalis*) биоваров чумного микроба обладают денитрифицирующей активностью, в то время как штаммы средневекового (*medievalis*), а также недавно предложенного D.Zhou *et al.* биовара *microtus* не способны восстанавливать нитраты [1, 3, 5]. Согласно имеющимся данным причиной отсутствия денитрифицирующей активности у биоваров *medievalis* и *microtus* является наличие единичных нуклеотидных замен в гене *narA* (в позиции 613 и 1021 п.н. соответственно), которые приводят к нарушению структуры кодируемого этим геном продукта – периплазматической нитратредуктазы [5].

Штаммы основного и неосновных подвидов чумного микроба, циркулирующие в различных природных очагах на территории РФ и стран ближнего зарубежья, также различаются по их денитрифицирующей активности [1, 2]. Штаммы высоковирулентного основного подвида неоднородны по этому признаку и отличаются по их способности редуцировать нитраты, что позволяет предположить их принадлежность к различным биоварам. Кавказский подвид восстанавливает нитраты, в отличие от других неосновных – алтайского, улегейского подвидов, а также штаммов таласской группы, которые не обладают этим свойством. Штаммы гиссарского подвида преимущественно лишены денитрифицирующей активности [1].

Генетические причины неспособности к денитрификации у некоторых штаммов основного и неосновных подвидов остаются до настоящего времени не выясненными. Данные по этому вопросу в литературе отсутствуют. В связи с этим целью нашей работы было изучение структурно-функциональной организации генов *nar* оперона для установления причины отсутствия редуцирующей активности у штаммов *Y. pestis* основного и неосновных подвидов.

Материалы и методы

В работе использовано 22 штамма *Y. pestis* основного и неосновных подвидов из различных природных очагов Российской Федерации и ближнего зарубежья (таблица), которые получены из Государственной коллекции патогенных бактерий.

Для определения нуклеотидной последовательности варибельных областей гена *narA* с помощью программы Primer Express нами рассчитаны праймеры Nap469 – TACGCGGCGTTGAAGTTG и Nap1187 – TTGCCGGTTAACAGGTGC. Амплификацию фрагмента гена *narA* 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.

Результаты и обсуждение

В начале исследований был проведен сравнительный компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей пяти генов *nar* оперона, а также гена *narP*, участвующего в восстановлении нитратов [4], у штаммов *Y. pestis* KIM (*medievalis*), CO92 (*orientalis*), Antiqua, Angola. Nepal516 (Antiqua), 91001 (*microtus*), Pestoides F (кавказский подвид) и *Yersinia pseudotuberculosis* PB1/+, IP 32953, IP 31758, YPIII, представленных в базе данных NCBI GenBank. В результате установлено наличие единичных нуклеотидных замен в генах *narB* (в позиции 51, 135, 268 п.н. от начала гена), *narC* (54, 219, 507, 519) *narD* (69, 95, 192, 211), *narF* (322) и в гене *narP* (72, 139, 140, 198). Однако эти замены, по-видимому, не могли быть причиной нарушения проявления изучаемого признака, поскольку присутствовали у денитрифицирующих штаммов чумного и некоторых штаммов псевдотуберкулезного микробов.

Результаты компьютерного анализа нуклеотидной последовательности структурного гена *narA*, размер которого составляет 2493 п.н., показали присутствие в нем 27 единичных нуклеотидных замен у различных

Характеристика использованных в работе штаммов *Y. pestis*

Штамм	Природный очаг	Позиция в гене парА		Редукция нитратов
		613 п.н.*	1021 п.н.*	
Основной подвид				
A-161	Устьюртский	T	G	-
A-1836	Сарыджазский	G	G	+
C-631	Центрально-Кавказский	T	G	-
И-3244	Монголия	G	G	+
A-1818	Таласский	T	G	-
Кавказский подвид				
818	Приараксинский	G	A	+
C-534	Северо-Западный Прикаспийский	G	A	+
C-533	Каракумский	G	A	+
6499		G	A	+
Алтайский подвид				
И-2377	Горно-Алтайский	G	A	-
И-3085	Убурхангай, МНР	G	A	-
И-2359	Горно-Алтайский	G	A	-
Гиссарский подвид				
A-1249	Гиссарский	G	A	-
A-1633	Гиссарский	G	A	-
A-1627	Гиссарский	G	A	-
A-1724	Гиссарский	G	A	-
A-1725	Гиссарский	G	A	+
A-1726	Гиссарский	G	A	+
Улэгейский подвид				
И-2422	Монголия	G	G	-
И-3130	Монголия	G	G	-
Таласская группа				
A-1802	Таласский	G	A	-
A-1814	Таласский	G	A	-

*Указана позиция значимых замен нуклеотидов в гене *parA*.

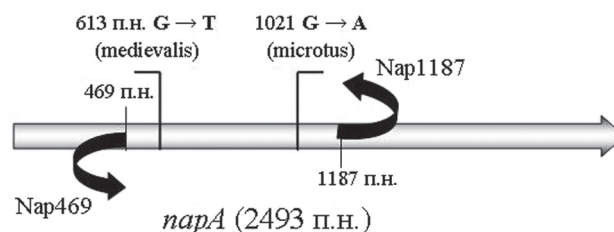
штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* (GenBank). Наиболее значимой оказалась замена нуклеотида G на T в позиции 613 п.н. от начала гена, которая была выявлена у штамма KIM (биовар *medievalis*). По данным математического анализа, с использованием программы MEGA4 установлено, что она приводит к смене кодона GAA на TAA, который является стоп-кодоном и причиной преждевременной термации трансляции полипептидной цепи (после 204-го аминокислотного остатка) молекулы периплазматической нитратредуктазы. Эти результаты подтверждают данные других исследователей о том, что причиной отсутствия редукции нитратов у чумного микроба биовара *medievalis* является наличие замены нуклеотида в позиции 613 п.н. гена *parA* [5].

Причиной неспособности редуцировать нитраты биоваром *microtus*, согласно данным D. Zhou *et al.* [5], является единичная нуклеотидная замена G на A в позиции 1021 п.н. от начала гена *parA*, приводящая

к смене кодона GCC на ACC и кодируемой аминокислоты аланина (Ala) на треонин (Thr) в позиции 341-го аминокислотного остатка. Однако данные проведенного нами компьютерного анализа свидетельствуют о том, что эта нуклеотидная замена не может быть причиной отсутствия денитрификации у биовара *microtus*, поскольку она встречается и у штаммов, способных восстанавливать нитраты – *Y. pseudotuberculosis* PB1/+, IP 32953, IP 31758, YPIII. Таким образом, генетические причины отсутствия способности к редукции нитратов у штаммов биовара *microtus* остаются не установленными.

Для выявления причин отсутствия денитрифицирующей активности у некоторых штаммов возбудителя чумы нами изучено 22 штамма основного и неосновных подвидов, циркулирующих в природных очагах на территории РФ и ближнего зарубежья (таблица). Основной подвид был представлен четырьмя штаммами из Устьюртского, Центрально-Кавказского, Сарыджазского, Таласского очагов чумы и одним штаммом из Монголии. Неосновные подвиды включали 18 штаммов, в том числе 4 изолята кавказского (Приараксинский, Северо-Западный Прикаспийский, Каракумский очаги), 3 – алтайского (Алтайский горный очаг), 6 – гиссарского (Гиссарский высокогорный очаг), 2 – улэгейского (Монголия) подвидов чумного микроба, а также 2 штамма из Таласского высокогорного очага чумы. Все изученные штаммы кавказского подвида обладали денитрифицирующей активностью, в отличие от штаммов алтайского, улэгейского подвидов и таласской группы. В то же время штаммы основного и гиссарского подвидов были неоднородны по проявлению этого признака (таблица).

У всех использованных в работе штаммов проведено изучение гена *parA* с помощью рассчитанных нами праймеров Nap469-Nap1187 на варибельный участок, содержащий значимые замены нуклеотидов в позиции 613 п.н. и 1021 п.н. (рисунок). В ПЦР был получен специфический амплификат фрагмента гена *parA*, имеющий размер 719 п.н., при секвенировании которого установлено, что штаммы основного подвида A-161, C631, A-1818, неспособные редуцировать нитраты, имели единичную нуклеотидную замену G на T в позиции 613 п.н., характерную для



Структура гена *parA*, кодирующего периплазматическую нитратредуктазу у штаммов *Y. pestis*. Стрелками указаны места посадки праймеров Nap469 и Nap1187, фланкирующих варибельный участок гена. Также указано положение нуклеотидных замен (в позициях 613 и 1021 п.н.), которые, по литературным данным, приводят к нарушению функциональной активности гена *parA*.

штаммов биовара *medievalis*, которая приводит к смене кодона (GAA на TAA) и преждевременной терминации трансляции полипептидной цепи молекулы периплазматической нитратредуктазы. В отличие от них, штаммы основного подвида И-3244 и А-1836, обладающие денитрифицирующей активностью, а также все штаммы неосновных подвигов независимо от наличия или отсутствия этой активности подобного генетического дефекта в позиции 613 п.н. не имели.

У штаммов кавказского подвида, способного восстанавливать нитраты, в гене *napA* нами установлено наличие нуклеотидной замены G на A в позиции 1021 п.н., которая обнаружена и у алтайского, гиссарского подвигов и штаммов таласской группы, не обладающих таким свойством. У всех штаммов основного и улэгейского подвигов нуклеотидная замена в позиции 1021 п.н. отсутствовала. Эти данные подтверждают сделанный нами выше на основании данных компьютерного анализа вывод о том, что наличие замены нуклеотида в позиции 1021 п.н. не является причиной отсутствия редукции нитратов у биовара *microtus*, поскольку она выявлена нами и у штаммов разных подвигов *Y. pestis* как способных, так и неспособных редуцировать нитраты.

Таким образом, проведенное секвенирование нуклеотидной последовательности варибельного фрагмента гена *napA*, полученного с помощью пары праймеров Nap469-Nap1187, показало наличие единичной нуклеотидной замены G на T в позиции 613 п.н. у части штаммов основного подвида, что коррелировало с отсутствием у них способности восстанавливать нитраты. Наличие уникальной нуклеотидной замены в позиции 613 п.н., являющейся генетической меткой биовара *medievalis*, у штаммов А-161, С-631 и А-1818 основного подвида может служить основанием для отнесения их к биовару *medievalis*.

Нуклеотидная замена G на A в позиции 1021 п.н. обнаружена нами у всех неосновных подвигов *Y. pestis* как денитрифицирующих, так и не восстанавливающих нитраты, за исключением улэгейского, также неспособного к редукции нитратов, подвида. В связи с этим замена в позиции 1021 п.н., вопреки мнению D. Zhou *et al.* [5] не может являться причиной отсутствия денитрифицирующей активности у штаммов биовара *microtus*, так как обнаружена у

штаммов кавказского подвида, восстанавливающих нитраты, но не обнаружена у штаммов улэгейского подвида, не обладающих денитрифицирующей активностью. По всей видимости, генетические причины отсутствия способности редуцировать нитраты у биовара *microtus* и у алтайского, улэгейского, части штаммов гиссарского подвигов, а также таласской группы штаммов следует искать за пределами *nap* оперона в других генах, функционально связанных с восстановлением нитратов. Работа поддержана грантами РФФИ № 07-04-00100, 08-04-00731а и 08-04-12082 офи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куклева Л. М., Проценко О. А., Кутырев В. В. Современные представления о родстве возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. Мол. ген., микробиол. и вирусол. 2002; 1: 3–7.
2. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Попов Н. В. с соавт. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. Под ред. Г. Г. Онищенко, В. В. Кутырева. М.: Медицина; 2004.
3. Devignat R. Varietes de l'espece Pasteurella pestis. Nouvelle hypothese. Bull OMS. 1951; 4:247–63.
4. Richardson D. J., Berks B. C., Russell D. A. *et al.* Functional, biochemical and genetic diversity of procariotyic nitrate reductases. CMLS. 2001; 58:165–78.
5. Zhou D., Tong Z., Song Y. *et al.* Genetics metabolic variations between *Yersinia pestis* biovar and the proposal of a new biovar, *microtus*. J. Bacteriol. 2004; 186:5147–52.

G.N.Odinokov, G.A.Eroshenko, N.A.Vidyaeva, Ja.M.Krasnov,
N.P.Gouseva, V.V.Kutyrev

Structural and Functional Analysis of *nap* Operon Genes in *Yersinia pestis* Strains of Different Subspecies

Russian Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

Carried out was structural and functional analysis of *nap* genes coding for a significant diagnostic feature – nitrate reduction in main and non-main subspecies of *Yersinia pestis*. The presence of a single nucleotide substitution (A for T in position 631) in gene *napA* was determined to be the reason for the lack of nitrate reduction in part of the main subspecies strains. Other mutation – single nucleotide substitution G for A in position 1021 of *napA* is not the reason for absence of this diagnostic feature in non-main subspecies and biovar *microtus* as this substitution is present in denitrifying and non-denitrifying strains.

Key words: plague agent, main and non-main subspecies, nitrate reduction, structural gene, mutation.

Об авторах:

Одиноков Г.Н. (м.н.с.), Ерошенко Г.А. (вед.н.с.), Видяева Н.А. (н.с.), Краснов Я.М. (н.с.), Гусева Н.П. (с.н.с.), Кутырев В.В. (директор). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 41005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел.: (845-2) 26-21-31. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 07.11.08.

Г.А.Афанасьева¹, Н.П.Чеснокова¹, С.М.Дальвадяниц², В.В.Кутырев²**ЭНДОТОКСИН *YERSINIA PESTIS*: ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ, РЕЦЕПЦИИ И МЕХАНИЗМОВ ИНДУКЦИИ ЦИТОПАТОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ (ОБЗОР)**¹ГОУ ВПО Саратовский государственный медицинский университет,²ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Представлен обзор литературных данных о структуре, эффектах, механизмах рецепции липополисахарида (ЛПС) *Y. pestis*. ЛПС рассматривается как токсический фактор патогенности чумного микроба, инициирующий развитие структурных, метаболических и функциональных нарушений на начальном этапе чумной инфекции и интоксикации. Эффекты ЛПС на высоте развития клинических проявлений патологии имеют цитокинопосредованный характер и усиливаются в условиях гипоксического синдрома и свободнорадикальной дестабилизации биологических мембран.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, эндотоксин, липополисахарид (ЛПС), цитокины, гипоксия, липопероксидация.

Наличие природных очагов чумы, занимающих значительные территории, в том числе и в России, усиление международной и внутренней миграции населения, военные конфликты, а также возможность использования биотеррористами возбудителя в рецептуре биологических агентов создает неустойчивую эпидемиологическую обстановку и не только потенциальную, но и реальную угрозу возникновения вспышек чумы среди населения [2, 10, 29, 55, 62].

В настоящее время достигнуты большие успехи в разработке профилактических мероприятий с использованием различных методов вакцинации, а также методов этиотропного лечения чумной инфекции, основанных на использовании антибиотиков широкого спектра действия, сульфаниламидных, нитрофурановых препаратов и т.д. Антибактериальная терапия является, безусловно, главенствующей при всех клинических формах чумы, вне зависимости от темпа развития инфекционного процесса. Ее эффективность определяется ранней постановкой диагноза. Использование высокоэффективных бактерицидных препаратов освобождает организм от возбудителя, но не обеспечивает прекращение воздействия антигенов и токсинов последнего. Это обусловлено, с одной стороны, интенсивным распадом микробных клеток и освобождением в системный кровоток разнообразных токсических и ферментных факторов патогенности возбудителя (в том числе эндотоксина), обеспечивающих повреждение. С другой стороны, персистенция эндотоксина в организме сопровождается сорбцией его структурами различных органов и тканей, развитием сенсибилизации, вторичных иммунопатологических и метаболических нарушений, во многом определяющих тяжесть течения и исход заболевания. Значимость указанных вторичных расстройств, отсутствие высокоэффективных методов их медикаментозной коррекции обуславливает

необходимость дальнейшего изучения проблем патогенеза чумы, выявления общих закономерностей и особенностей эффектов токсинов и ферментов возбудителя и совершенствования принципов патогенетической терапии этого грозного заболевания.

Как известно, ведущая роль в патогенезе чумы и, в частности, эндотоксинального шока принадлежит эндотоксину *Yersinia pestis*. Понятие «эндотоксин» ассоциируют с ЛПС внешней мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий [56, 61], который выделяется в основном при разрушении бактериальных клеток. Существует также свободный эндотоксин, продуцируемый бактериями в сравнительно небольшом количестве [49, 62]. Важную роль в изучении ЛПС сыграли исследования, проведенные в «РосНИПЧИ «Микроб», где впервые в нашей стране был выделен эндотоксин чумного микроба и показано, что его фармакобиологическая активность типична для ЛПС грамотрицательных бактерий [13, 15–17].

Препараты ЛПС в водной среде имеют бислойную надмолекулярную структуру и высокий аффинитет как к растворимым компонентам биологических жидкостей, так и к рецепторным аппаратам клеточных мембран, что, по-видимому, и обеспечивает высокую активность эндотоксина [32, 35, 48, 57–59].

ЛПС чумного микроба расположен в наружном слое внешней мембраны клеточной стенки и относится к R-хемотипу, так как построен по типу гликолипидов, лишенных O-специфических олигосахаридов в отличие от ЛПС большинства грамотрицательных бактерий, паразитирующих в S-форме [56].

Основными структурными единицами ЛПС чумного микроба являются внутренний кор и липид А. Внутренний кор образован 3-дезоксид- α -D-манно-октулозойной кислотой, представленной двумя остатками L-глицеро- α -D-манно-гептозного трисахари-

да [48, 53, 59].

J.L.Hartley и соавт. (1974) выделили ЛПС чумного микроба, содержащий 29,2 % липида А. Последний, подобно липидным компонентам других ЛПС, обуславливает его активность и токсичность, не имеет специфических детерминант и перекрестно реагирует с антителами против большинства грамотрицательных бактерий [41].

Липид А чумного микроба ковалентно связан с сахаридной частью, состоящей из 15 сахаров и образующей *cor*-регион. Наиболее важными для проявления эндотоксических свойств в составе макромолекулы ЛПС является область гликолипида и R-ядра. Иммунохимическая специфичность молекулы ЛПС *Y. pestis* зависит от первичной структуры ее полисахаридной части. Существенными факторами, влияющими на токсичность препарата, являются температура инкубации чумных бактерий, а также метод выделения ЛПС [12, 28].

В состав липида А эндотоксина *Y. pestis* входят глюкозамин, глюкозамин-6-фосфат, этаноламин и оксимиристиловая кислота. Остатки фосфорной кислоты в ЛПС соединены с четырьмя аминокислотными остатками, а гликозидные фосфатные группы – с D-арабинозофуранозильным остатком или с фосфорилэтаноломином. Гидроксильные группы дисахарида ацетилированы додекановой, гексадеценоевой, 3-окситетрадекановой и 3-додеканоилокситетрадекановой кислотами. Аминогруппы дисахарида несут 3-окситетрадекановую и 3-додеканоилокситетрадекановую кислоты [16]. В реакциях взаимодействия антиген-антитело с участием ЛПС существенную роль играют ацильные и ацилооксацильные группы липида А [37, 63].

В литературе есть мнение о существовании «фазовых вариаций» ЛПС, свойственных различным этапам взаимодействия в системе хозяин-паразит. При попадании бактерий чумы в организм теплокровного хозяина, то есть при изменении, в частности, температурных условий, происходит модификация программы считывания генома, и клетки бактерий приобретают иные черты фенотипа, позволяющие им выживать и размножаться в макроорганизме [1, 12].

Как оказалось, в организме хозяина в условиях лизиса бактериальных клеток ЛПС образует комплексы с белковыми молекулами, в частности с мышинным токсином, обладающим избирательной токсичностью в отношении мышей и крыс. В экспериментах с модифицированными формами ЛПС выяснено, что при образовании физико-химических связей между мышинным токсином и коровой частью ЛПС изменяется конформация последней, что сопровождается преобразованием токсически неактивной формы ЛПС в чрезвычайно токсичную. Потенцирующее влияние мышинного токсина на патогенные свойства ЛПС специфично, так как использование для этой цели других белков, например бычьего и человеческого сывороточных альбуминов, цитохрома С и мышинного гамма-глобулина, не влияет на степень ток-

сичности ЛПС [1, 37, 38].

Анализ литературных данных свидетельствует о множественности клеточных акцепторов чумного ЛПС и разнообразии посредников, участвующих в реализации системных эффектов эндотоксина. Первичными мишенями для эндотоксина являются полиморфно-ядерные лейкоциты, макрофаги, моноциты, клетки эндотелия и другие. Известно, что ЛПС запускает многочисленные цитокинесвязанные патологические процессы в организме, поскольку выступает в роли индуктора выработки провоспалительных цитокинов, в частности ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6 и др. [11, 18, 32].

Рецепция эндотоксина может носить неспецифический характер и обеспечиваться, в частности, сродством липида А к биологическим мембранам клеток. Однако на поверхности клеток имеются и специфические для эндотоксина белковые рецепторы CD14, CD18, CD54, Toll-рецепторы и другие, для которых ЛПС выступает в роли молекулярного паттерна (*pathogen-associated molecular patterns*). Одним из первых рецепторов для ЛПС был открыт CD11 β /CD18 или CR3-рецептор [48, 59].

Так, CD14 и CD11/CD18 (β 2-интегриновые) рецепторы макрофагов способны связывать липид А ЛПС, что индуцирует цитокиновый иммунный ответ. CD14-рецептор (прежде известный как моноцит-специфический антиген) рассматривается как ключевой ЛПС-распознающий комплекс плазматической мембраны моноцитов, макрофагов, гранулоцитов, инициирующий развитие цитопатогенных реакций ЛПС. Причем, стимуляция CD14-рецепторов низкими дозами ЛПС обуславливает раннюю фазу инфекционного процесса. При высокодозовой стимуляции развитие воспалительного ответа опосредуется CD11/CD18-рецепторами [35].

CD14-дефицитные макрофаги, стимулированные ЛПС, не способны продуцировать ФНО- α и ИЛ-6. Нормальному цитокиновому ответу у таких макрофагов способствуют CD11/CD18-рецепторы [49].

Среди клеточных паттерн-распознающих рецепторов, постоянно экспрессированных на поверхности лейкоцитов, важную роль играют Toll-подобные рецепторы (*Toll-like receptor*, TLR), названные так благодаря их гомологии с белками *Drosophila Toll*, обеспечивающими иммунитет у растений и насекомых. В настоящее время идентифицировано 10 типов Toll-like-рецепторов (TLR), участвующих в процессах распознавания микробных компонентов и осуществляющих регуляцию активности генов, контролирующей синтез провоспалительных цитокинов (в частности ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12) и развитие процесса воспаления.

Лиганды для большинства TLR млекопитающих остаются недостаточно изученными, однако известно, что преимущественно TLR2 и TLR4, которые экспрессируются на различных типах лейкоцитов и на дендритных клетках, играют ведущую роль в распо-

знании микробных продуктов, в котором принимают участие и другие белки, в частности, мембранный рецептор CD14 и адаптерная молекула MD2, обеспечивающая стабильность всего комплекса [9, 51]. В то же время очевидно, что макрофаги используют TLR для определения природы фагоцитируемого материала. Антибиотики способны усиливать TLR-опосредованную провоспалительную активность клеток-мишеней [27, 32, 49, 50, 60, 61].

Эндотоксин, попадая в кровотоки, связывается также с LBP-белком плазмы крови (lipopolysaccharid binding protein), относящимся к категории острофазовых белков, продукция которого усиливается в печени в условиях инфекционного и токсического процесса. В комплексе с LBP-белком ЛПС транспортируется от мицеллярных агрегатов к мембранам и взаимодействует с CD14-рецепторами на поверхности клеток, в частности лейкоцитов, что ведет к их активации. LBP-белок нейтрализует активность ЛПС как эндотоксина и обеспечивает эффективное распознавание ЛПС клеточными рецепторами CD14 и TLR-4 [27].

Кроме того, в транспорте и связывании ЛПС участвует растворимая в плазме форма CD14 (sCD14) гликопротеиновой природы, обеспечивающая взаимодействие ЛПС с немиелоидными клетками (эндотелиальными и эпителиальными) [9].

Однако катионные антимембранные пептиды (КАМП) – факторы неспецифической защиты клеток различных тканей – имеют более высокое сродство к ЛПС по сравнению с сывороточным LBP-белком и, таким образом, препятствуют связыванию ЛПС с TLR. Некоторые виды иерсиний, в том числе *Y. pestis*, обладают способностью противостоять КАМП, причем на уровень устойчивости к ним влияет температура культивирования бактерий [39, 40, 46, 53, 54].

Комплекс, образующийся при взаимодействии ЛПС с LBP-белком и растворимым CD14 (sCD14), доставляется к мембранно-связанному CD14 (mCD14). ЛПС, связанный с мембранным CD14, транспортируется к рецептору TLR-4-MD-2 с последующей олигомеризацией и запуском механизмов регуляции активности генов клетки-мишени. Так, проведение сигнала обеспечивается взаимодействием внутриклеточных доменов TLR-4 с адаптерным белком MyD88 и фосфорилированием с участием киназ IRAK1 и IRAC4. Вслед за этим происходит активация внутриклеточного фактора TRAF6, освобождение и транслокация в ядро транскрипционного фактора NFκB, что приводит к началу экспрессии генов цитокинов, NO-синтазы и генов других медиаторов и регуляторных молекул воспалительного процесса. В результате происходит активация клеточных функций, обеспечивающих фагоцитоз, представление антигенов, продукции NO, активных форм кислорода, низкомолекулярных медиаторов воспаления и группы провоспалительных цитокинов с полимодальными эффектами локального и системного действия, к которым относятся ИЛ-1,

ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО, интерфероны I типа, хемокины и другие [32, 33, 34, 50, 52].

В литературе существуют сведения о корреляции цитокининдуцирующей активности ЛПС в отношении TNF-α с изменениями структуры ЛПС в условиях низко- и высокотемпературного культивирования бактерий. Так, было показано, что более высокой TNF-α-индуцирующей активностью обладает ЛПС из культур чумного микроба, выращенных при температуре 28 °C, по сравнению с ЛПС-37. Различия в уровне индукции TNF-α согласуются с особенностями химического строения липида А в ЛПС-28 и ЛПС-37: одновременным присутствием тетар- и более высокоацилированных форм в первом и лишь тетраацилированной формы во втором. Наблюдалась общая тенденция повышения летальной токсичности препаратов ЛПС из штаммов, выращенных при низкой температуре [7, 8, 18].

Следует отметить, что эндотоксин чумного микроба не только рецептируется различными клетками, но и нарушает их структуру и функциональную активность. Так, ЛПС *Y. pestis* угнетает поглотительную и секреторную активность мононуклеарных фагоцитов. При этом наблюдаются изменения размеров и формы макрофагов, увеличивается объем цитоплазмы, появляются многочисленные вакуоли. Внутри фагоцитов ЛПС способен нейтрализовать действие катионных белков [1]. Г.И.Васильева и соавт. отмечают более выраженный эффект ЛПС-препаратов в отношении макрофагов мышей, чем морских свинок, который обусловлен, по-видимому, большей чувствительностью макрофагов мышей к цитотоксическому действию ЛПС [12].

Как указывалось выше, мишенями для эндотоксина могут быть и эндотелиальные клетки. Так, под влиянием эндотоксина увеличивается проницаемость эндотелия, повышается экспрессия на его поверхности адгезивных молекул для полиморфно-ядерных лейкоцитов. Развитие эндотелиальной дисфункции под влиянием ЛПС является ведущим патогенетическим фактором возникновения легочной гипертензии при эндотоксиновом шоке [64].

В настоящее время очевидна возможность прямого цитопатогенного воздействия токсических и ферментных факторов возбудителя на структурные элементы сосудистой стенки. Известно, что ЛПС, мышинный токсин, а также нейраминидаза, гиалуронидаза, фосфолипаза, протеазы чумного микроба воздействуют на компоненты межклеточного вещества, биологических мембран, такие как гиалуроновая кислота и продукты ее деградации, гликопротеиды, гликолипиды, олигосахариды, аминокислоты и пептиды, фосфолипиды и др. [3, 19, 22, 36, 47].

Эндотоксин, взаимодействуя с рецепторами практически всех клеток крови и эндотелия сосудов, обеспечивает нарушение баланса различных биорегуляторных молекул, в частности простагландинов [42]. Установлено, что ЛПС чумного микроба, как и другие бактериальные ЛПС, активирует

циклоксигеназный и липоксигеназный пути метаболизма ненасыщенных жирных кислот. Изменения содержания простагландинов под влиянием ЛПС обуславливают развитие процессов тромбообразования, внутрисосудистой коагуляции, вазо- и бронходилатацию [25, 42].

ЛПС воздействует и на систему комплемента, запуская параллельно спазм микрососудов и активацию свертывания крови. Гиперкоагуляционный сдвиг быстро сменяется гипокоагуляционными расстройствами, в основе которых лежит активация антикоагулянтной системы крови, развитие коагулопатии потребления и ДВС-синдрома. Показано прямое антитромбиновое действие ЛПС *Y. pestis* и его ингибирующее влияние на образование протромбинового и тромбинового комплексов. Большие дозы ЛПС приводят к развитию тяжелых нарушений гемодинамики, свойственных эндотоксическому шоку с последующим развитием полиорганной недостаточности и явлений Шварцмана [52].

Необходимо отметить, что нарушения гемостатического потенциала крови, активности антикоагулянтной и фибринолитической систем закономерно сочетаются с изменениями вязкостных свойств крови, а также индексов деформируемости и агрегации эритроцитов, коррелирующими с тяжестью клинических проявлений патологии [6].

Вслед за сорбцией токсических компонентов *Y. pestis* и развитием прямых цитопатогенных эффектов формируется гипоксия, как типовой патологический процесс, обуславливающий потенцирование эффектов возбудителя на молекулярно-клеточном, органном и системном уровнях.

Установлено, что гипоксия при чумной инфекции и интоксикации имеет сложный генез. Так, развитие циркуляторной гипоксии в динамике патологии обусловлено как прямым миокардиотоксическим эффектом факторов патогенности чумного микроба, так и расстройствами коагуляционного потенциала крови, изменениями активности антикоагулянтной и фибринолитической систем, нарушениями вязкости крови [19, 26].

Гемическая гипоксия при чумной инфекции и интоксикации обусловлена способностью различных ферментных факторов чумного микроба (гемолизина, аденилатциклазы и др.) вызывать дезорганизацию мембран эритроцитов [4]. Касаясь патогенеза тканевой гипоксии при указанной инфекционной патологии, необходимо отметить, что под влиянием мышечного токсина и основного соматического антигена происходит набухание митохондрий и нарушение сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования, транспорта электронов в ферментной цепи за счет торможения энзиматической активности дегидрогеназ [3]. Формирование тяжелой гипоксии при чумной инфекции и интоксикации может быть обусловлено нарушениями кровообращения в легочной ткани, развитием первичной и вторичной пневмонии, в тяжелых случаях – отека легких [20, 30, 31].

Как известно, гипоксия сопровождается формированием стереотипного комплекса структурной и функциональной дезорганизации биологических мембран клеток и субклеточных структур в результате образования высокореактивных активных форм кислорода, обладающих способностью индуцировать процессы липопероксидации [44].

В серии работ проведена оценка роли токсических факторов патогенности *Y. pestis* в активации свободнорадикального окисления и недостаточности антиоксидантной системы крови в механизмах развития структурных и функциональных нарушений при экспериментальной чумной интоксикации. Так, данные, полученные в экспериментах на белых мышах и крысах, подтверждают вывод о том, что эфферентным звеном цитопатогенных эффектов ЛПС чумного микроба является дозозависимая активация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Об этом свидетельствует чрезмерное накопление продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитах экспериментальных животных в динамике чумной интоксикации различной степени тяжести [5, 6, 44, 45]. Выявленные нарушения коррелируют со степенью выраженности аутоинтоксикации и изменением вязкостных свойств крови в динамике эндотоксемии [21, 45].

Приведенные данные литературы позволяют заключить, что эндотоксин является важнейшим фактором патогенности чумного микроба и обладает всеми свойствами ЛПС грамотрицательных бактерий, паразитирующих как в R- так и в S-фазе, в частности, рецептируется клетками крови и тканей различной морфофункциональной организации, играет иницирующую роль в формировании структурных, метаболических и функциональных нарушений на начальном этапе развития инфекции и интоксикации.

Ранняя диагностика и использование средств этиотропной терапии, позволяющей избежать летального исхода, не исключает взаимодействия эндотоксина с рецепторами различных клеток и индукции так называемых неспецифических биологических эффектов, типовых патологических реакций на клеточном, органном и системном уровнях, определяющих тяжесть течения, исход заболевания и требующих медикаментозной патогенетической коррекции.

Как указывалось выше, одним из значимых патогенетических факторов эндотоксикоза при чумной инфекции и интоксикации является формирование гипоксического состояния сложного генеза. Ведущим эфферентным звеном дезинтеграции биологических мембран клеток в условиях гипоксии при чумной интоксикации является активация процессов свободнорадикального окисления. В связи с этим одним из перспективных патогенетически обоснованных принципов комплексной терапии чумной инфекции и интоксикации может быть использование антиоксидантов и антигипоксантов субстратного и регуляторного действия.

Вышесказанное свидетельствует о необходимости

сти разработки высокоэффективных методов патогенетической медикаментозной коррекции вторичных неспецифических расстройств при чумной инфекции и интоксикации, гарантирующих полную реабилитацию больного.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов А.П. Факторы *Y. pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2002; 3:3–23.
2. Арутюнов Ю.И. Уроки эпидемии чумы в Индии. Эпидемиол. и инф. бол. 2004; 1:12–7.
3. Асеева Л.Е., Мишанькин М.Б., Гончаров Е.К. и др. Некоторые особенности действия «мышинного» токсина и антигенной фракции I *Y. pestis* на клетки чувствительных к чуме животных. Бюл. эксп. биол. и мед. 1995; 2:193–5.
4. Асеева Л.Е., Мишанькин М.Б., Рублев В.Д. и др. Гемолитическая активность аденилатциклазы и ц-АМФ-связывающего белка *Y. pestis*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1993; 6:10–1.
5. Афанасьева Г.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов и принципы патогенетической коррекции вторичных метаболических расстройств в динамике чумной интоксикации [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Саратов; 1995.
6. Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П. Механизмы цитопатогенных эффектов эндотоксина *Y. pestis*. Успехи современного естествознания. 2007; 12(приложение):130.
7. Бахтеева И.В., Титарева Г.М., Шайхутдинова Р.З. и др. Изучение экспрессии TNF- α в сыворотке мышей при введении липоолигосахаридов (ЛОС) *Yersinia pestis*. В кн.: Сб. науч. тр., посв. 75-летию НИИ микробиологии МО РФ. Киров, 2003. С. 65–6.
8. Бахтеева И.В., Титарева Г.М., Шайхутдинова Р.З. и др. Способность липополисахарида *Yersinia pestis* вызывать эндотоксический шок. Успехи современного естествознания. 2003; 10:54.
9. 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.
10. Брюханова Г.Д. Актуальные аспекты эпидемиологии и микробиологии чумы в современных условиях [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Ставрополь; 2003.
11. Васильева Г.И., Иванова И.А., Беспалова И.А. и др. Сравнительная оценка нейтрофилокиндуктирующей активности липополисахаридов *Yersinia pestis* EV и *Escherichia coli*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2001; 4:36–41.
12. Васильева Г.И., Беспалова И.А., Мишанькин М.Б. и др. Сравнительная оценка цитотоксического действия препаратов ЛПС *Yersinia pestis*, полученных разными методами. Фундаментальные исследования. 2005; 2:25.
13. Вейнблат В.И., Дальвадянц С.М., Веренков М.С. Методы получения и очистки капсульного антигена и эндотоксина возбудителя чумы. Лаб. дело. 1983; 12:37–9.
14. Домарадский И.В. Чума. М.: Медицина; 1998.
15. Дальвадянц С.М., Белобородов Р.А. Изучение токсических свойств антигена, изолированного из чумного микроба по методу Вестфала-Людеритца. Пробл. особо опасных инф. 1969; 2(6):138–42.
16. Дальвадянц С.М., Белобородов Р.А., Чумаченко В.Д. Феномен местной тканевой реактивности Шварцмана при действии препаратов эндотоксина возбудителя чумы. Пробл. особо опасных инф. 1971; 2(18):40–1.
17. Дальвадянц С.М., Земцова И.Н., Белобородов Р.А. и др. Биологическая активность эндотоксина чумного микроба. Пробл. особо опасных инф. Саратов, 1980. С. 31–3.
18. Дентовская С.В., Бахтеева И.В., Титарева Г.М. и др. Структурное разнообразие и эндотоксическая активность липополисахарида *Yersinia pestis*. Биохимия. 2008; 73(2):237–46.
19. Евлахова С.П., Мишанькин Б.Н. Очистка и некоторые свойства протеазы чумного микроба. Биотехнология. 1994; 8:21–4.
20. Заболотный Д.К. Научные результаты экспедиции. Легочная чума в Маньчжурии в 1910–1911 гг. Петроград; 1915. Т. 1. С. 6–11.
21. Инфекционный процесс. Под ред. Н.П.Чесноковой. М.: Академия естествознания; 2006. С. 37–56.
22. Лихолед В.Г., Кулешиова Н.В., Сергеева Н.В. и др. Детекция эндотоксинов грамотрицательных бактерий по спектру частот электро-магнитных излучений. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2007; 3:3–6.
23. Лобанов В.Н. Патологическая анатомия и патогенез чумы у человека. М.: Медгиз; 1956.
24. Мишанькин М.Б. Структурно-функциональная характеристика «мышинного» токсина чумного микроба [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Ростов н/Д; 1997.
25. Наумов А.В., Кузьмиченко И.А., Тараненко Т.М. Биохимические аспекты патогенности возбудителя чумы. Мед. паразитол. и паразитарн. бол. 1995; 4:17–22.
26. Николаев Н.И. Чума (клиника, диагностика, лечение, профилактика). М.: Медицина; 1968.
27. Пермяков Н.К., Аниховская И.А., Лихолед Н.В. и др. Иммуноморфологическая оценка резервов связывания эндотоксина полиморфноядерными лейкоцитами. Арх. патол. 1995; 2:4–7.
28. Понукалина Е.В. Состояние коагуляционного гемостаза при чумной интоксикации [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Саратов; 1990.
29. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Новиков Н.Л. и др. Современное состояние и прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2007 год. Пробл. особо опасных инф. 2007; 1(93):11–6.
30. Поярков А.Ю., Сухоруков В.П., Романов В.Е. и др. Применение препарата инфукол ГЭК в комплексной терапии экспериментальной легочной чумы у обезьян павианов анубиусов на стадии эндотоксического шока. Вестник интенсивной терапии. 2004; 4:38–44.
31. Романов В.Е., Васильев Н.Т., Шабалин Б.А. и др. Изучение влияния антибактериальной терапии на эпидемическую опасность при экспериментальной легочной форме чумы у обезьян павианов гамадрилов. Антибиотики и химиотерапия. 2001; 46(4):16–8.
32. Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г., Бондаренко В.М. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2004; 3:98–105.
33. Саникодзе Т.В., Тхилава Н.Г., Папава М.Б. и др. Роль свободных радикалов азота и кислорода в патогенезе ЛПС-индуцированной эндотоксемии. Бюл. эксп. биол. и мед. 2006; 2:172–6.
34. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления. Цитокины и воспаление. 2005; 4(1):3–10.
35. Сварваль А.В., Ценева Г.Я., Шендерович О.А. Липополисахарид иерсиний и его биологическая активность. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2006; 3:100–4.
36. Соколова Е.П. Механизмы активации токсических субстанций чумного микроба [автореф. дис. ... канд. биол. наук]. Ростов н/Д; 2002.
37. Соколова Е.П., Марченков В.И., Демидова Г.В. и др. Комплексы «мышинного» токсина чумного микроба с модифицированными формами липополисахарида *Yersinia pestis* и с липополисахаридами других бактерий. Биотехнология. 2001; 4:53–8.
38. Соколова Е.П., Тяньнова В.И., Демидова Г.В. и др. Образование комплекса «мышинный» токсин – липополисахарид у *Yersinia pestis*. Биотехнология. 2000; 5:25–30.
39. Титарева Г.М. Влияние структуры полисахарида на устойчивость *Yersinia pestis* к бактерицидному действию катионных антимикробных пептидов и компонента сыворотки крови [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. М.; 2008. 28 с.
40. Титарева Г.М., Фурсова Н.К., Бахтеева И.В. и др. Штаммовые отличия *Yersinia pestis* по чувствительности к бактерицидному действию полимиксина В. Успехи современного естествознания. 2003; 10:100.
41. Федорова В.А., Девдариани З.Л. Изучение антигенных детерминантов ЛПС *Yersinia pestis* с помощью моноклональных антител. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 1998; 3:22–6.
42. Черкасова Т.Д., Шенелева Г.К., Венгров П.Р. и др. Простагландины и циклические нуклеотиды в динамике развития экспериментального синдрома интоксикации, вызываемого липополисахаридом *Yersinia pestis*. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1989; 1:3–6.
43. Черкасский Б.Л. Справочник по особо опасным инфекциям. М.: Медицина; 1996.
44. Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю. Активация свободно-радикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов. Саратов; 2006.
45. Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Афанасьева Г.А. Интегративные показатели реактогенности липополисахарида, полученного из вакцинного штамма EV *Yersinia pestis*. Мед. академ. журн. 2003; 3(3, приложение 4):86–7.
46. Шайхутдинова Р.З., Титарева Г.М., Баннов В.А. и др. Получение штаммов *Yersinia pestis*, чувствительных к полимиксину В, методом инсерционного мутагенеза. В кн.: Матер. 7 Межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ «Чрезвычайные ситуации межгосударственного значения в общественном здравоохранении в решениях Санкт-Петербургского саммита государств-участников «группы восьми» и санитарная охрана территорий государств-участников СНГ». Оболенск; 2006. С. 130–1.

47. Achtman M., Morelli G., Zhu P. et al. Microevolution and history of the plague bacillus *Yersinia pestis*. PNAS; 2004. 101:17837–42.
48. Brade H. Endotoxin in Health and Disease. N.Y.–Basel; 1999.
49. Gutschmann T., Larrick J., Seydel U. et al. Molecular mechanisms of rabbit CAP18 with outer membranes of gram-negative bacteria. Biochemistry. 1999; 38:13643–53.
50. Heumann D. CD14 and LPB in endotoxemia and infections caused by Gram-negative bacteria. J. Endotox. Res. 2001; 7(6):439–41.
51. Hou L., Sasaki H., Stashenko P. Toll-like receptor 4-deficient mice have reduced bone destruction following mixed anaerobic infection. Infect. Immun. 2000; 68(8):4681–7.
52. Hurley J.C., Levin J. The relevance of endotoxin detection in sepsis. In: Endotoxin in Health and Disease. H.Brade et al. (ed.). N.Y.–Basel; 1999. P. 841–854.
53. Knirel A., Dentovskaya S., Senchenkova S. et al. Structural features and structural variability of the lipopolysaccharide of *Yersinia pestis*, the cause of plague. J. Endotoxin Res. 2006; 12(6):3–9.
54. Knirel Y., Kocharova N.A., Senchenkova S. et al. A role of the lipopolysaccharide structure in the resistance of *Yersinia pestis* to the bactericidal of polymyxin B and serum. In: Abstracts of the 2006 NIAID Research Conference. Opatija, Croatia; 2006. P. 27.
55. Lippi D., Conti A. Plague, policy, saints and terrorists: a historical survey. J. Infect. 2002; 44(4):226–8.
56. Minka S., Bruneteau M. Isolation and chemical characterization of type R lipopolysaccharides of a hypovirulent strain of *Yersinia pestis*. Can. J. Microbiol. 1998; 44(5):477–81.
57. Nicado H. Outer membrane. In: Neidhardt F.C., Curtiss III R., Ingraham J.L. et al. *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, Cellular and Molecular Biology. 2d ed. Washington, DC: American Society for Microbiology. 1996. P. 29–47.
58. Nicado H. Permeability of the lipid domains of bacterial membranes. In: Aloia R.C., Curtain C.C., Gordon L.M. Membrane Transport and Information Storage. Advances in Membrane Fluidity. N.Y.: Alan Riss. 1990; 4:165–90.
59. Prokter R. Handbook of endotoxin. Elsevier Press, Amsterdam–N.Y.–Oxford, 1984.
60. Savidge T.C., Newman P.G., Pan W.H. Lipopolysaccharide-induced human enterocyte tolerance to cytokine mediated interleukin-8 production may occur independently of TLR-4/MD-2 signaling. Pediatr. Res. 2006; 59(1):89–95.
61. Vita N., Lefort S., Sozzani P. Detection and biochemical characteristics of the receptor for complexes of soluble CD14 and bacterial lipopolysaccharide. J. Immunol. 1997; 158(7):3457–62.
62. Whitby M., Ruff T.A., Street A.C. et al. Biological agents as weapons 2: anthrax and plague. Med. J. Austral. 2002; 176(12):605–8.
63. Zahringer U., Lindner B., Rietschel E. Chemical structure of lipid A: recent advances in structural analysis of biologically active molecules. In: Endotoxin in Health and Disease. H.Brade et al. (ed.). N.Y.–Basel; 1999. P. 93–114.
64. Zhou Z., Iones B. The vascular response to adrenergic stimulation in pithed rats following endotoxin. Circulat. Shock. 1990; 32:5566.

G.A.Afanasieva, N.P.Chesnokova, S.M.Dalvadyantc, V.V.Kutyrev

**Endotoxin of *Yersinia pestis*:
Structural Peculiarities, Mechanisms of Reception
and Induction of Cytopathogenic Effects**

State Medical University, Saratov;

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

Modern data on the *Y. pestis* lipopolysaccharide (LPS) structure and mechanisms of LPS reception by the host cells are reviewed. LPS is considered as a toxic pathogenicity factor produced by the plague microbe. Mechanisms of structural, metabolic and functional imbalance induced by the *Y. pestis* LPS at the initial stage of plague infection and intoxication are discussed. Clinical manifestations of cytopathogenic effects of LPS are cytokine-mediated and increase as hypoxic syndrome and free radical-induced destabilization of biological membranes develop.

Key words: *Yersinia pestis*, endotoxin, lipopolysaccharide (LPS), cytokines, hypoxia, lipoperoxidation.

Об авторах:

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

Кутырев В.В. (директор), Дальвадянтц С.М. (вед.н.с.). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел. (845-2) 73-46-48. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 10.07.08.

С.А.Бугоркова, В.Е.Куклев, Т.В.Бугоркова, З.В.Малыхина, В.В.Кутырев

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМНОЙ ИНФЕКЦИИ,
ОБУСЛОВЛЕННОЙ *YERSINIA PESTIS* ШТАММАМИ
С РАЗЛИЧНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКОЙ**

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

С помощью морфометрического анализа, включающего характеристику состояния апудоцитов в ряде органов, были получены сведения о формировании адаптационно-компенсаторных процессов в функциональных системах детоксикации и адаптации экспериментальных животных при моделировании чумной инфекции. Выявлены изменения активности и количества апудоцитов в иммунокомпетентных органах и в легочной ткани биомodelей. Показано, что выбранные для учета морфометрические показатели позволяют характеризовать тяжесть течения экспериментального инфекционного процесса.

Ключевые слова: штаммы, чумной микроб, морфометрия, апудоциты.

Существование на территории нашей страны и сопряженных территориях государств-участников СНГ природных очагов чумы обуславливает актуальность исследований по всестороннему изучению возбудителя этой инфекции [8, 11]. В связи с циркуляцией в природе штаммов *Yersinia pestis* с атипичными свойствами, отличающими их от характерного для конкретного очага варианта возбудителя, вызывает интерес сравнительный анализ реакций макроорганизма на такие штаммы, основанный на сопоставлении ряда параметров, характеризующих функцию ключевых систем жизнеобеспечения биомodelей при воспроизведении экспериментального инфекционного процесса. Применение для этого морфометрических методов, расширяющих возможности морфологического исследования, позволяет стандартизировать оценку выявляемых изменений.

Целью работы являлся подбор наиболее значимых морфометрических показателей для характеристики тяжести течения экспериментального инфекционного процесса в результате комплексного исследования лабораторных белых мышей, зараженных возбудителем *Y. pestis*, штаммами с различной генетической характеристикой.

Материалы и методы

Лабораторных белых мышей подкожно заражали в дозе 10^7 м.к. культурами *Y. pestis*: вирулентного штамма – *Y. pestis* 231 (1-я группа); природных штаммов – *Y. pestis* 770, 6205, 6215 (2-я группа), выделенных от переносчика (блх *Nasophila laeviseps*) и носителей (гребенщиковой песчанки и общественной полевки) на территории Астраханской области в Прикаспийском песчаном очаге; вакцинного штамма – *Y. pestis* ЕВ линии НИИЭГ (3-я группа). Наблюдение за животными осуществляли в течение 7 сут, по истечении которых все выжившие животные были умерщвлены хлороформом. В качестве контроля для морфометрического исследования были взяты

интактные белые мыши, которым подкожно вводили физиологический раствор в объеме 0,2 мл.

Оценку культурально-морфологических и биохимических свойств отобранных культур *Y. pestis* осуществляли в соответствии с «Руководством по профилактике чумы» [12]. Генетическое исследование *Y. pestis* указанных штаммов проводили с использованием праймеров комплементарных фрагментам видоспецифического для чумного микроба хромосомного локуса *3a*, генами *cafI* (плазмида pFra), *pla* (плазмида pPst), *lcrV* (плазмида pCad), *irp2* (локус иерсиниабактина хромосомного острова патогенности чумного микроба), *hmsH* (локус пигментсорбции хромосомного острова патогенности чумного микроба). Для проведения ПЦР-анализа использовали тест-систему «ГенПест» (ТУ-8895-005-01898109-2007) и экспериментальную тест-систему «Мульти-Ур» (РосНИПЧИ «Микроб»). Пробы обеззараживали в соответствии с Методическими указаниями (МУ 3.5.5-1034-01) [7]. Продукты ПЦР анализировали методом горизонтального электрофореза в 2–2,5 % агарозном геле согласно рекомендациям, изложенным в соответствующих руководствах [4, 9]. Для документирования полученных результатов использовали систему «GelDoc» («Biorad» США). Фенотипическая и генотипическая характеристики штаммов приведены в табл. 1.

Для гистологического исследования кусочки внутренних органов (печень, почки, легкие, селезенка), лимфатических узлов (регионарные, отдаленные) и кожи места введения культур фиксировали в 10 % водном нейтральном растворе формалина, а затем проводили по общепринятой схеме обработки материала [6]. Полутонкие парафиновые срезы окрашивали раствором гематоксилина и эозина [5], импрегнировали раствором нитрата серебра по Гримелиусу [18] и Массону в модификации Гамперля [10]. Готовые препараты просматривали в микроскопе Olympus CX31 с тринакуляром, выполняя морфометрический анализ с помощью денситоморфометрической програм-

Фено- и генотипическая характеристика штаммов *Y. pestis*, используемых для воспроизведения экспериментальной инфекции

Штамм	Ферментация				Фракция 1	Протеаза	Коагулаза	Пес-тици-ноген-ность	Чув-стви-тель-ность к пести-цину	Пиг-мент-сорбция	Са ²⁺ -за-виси-мость	Виру-лент-ность для лабора-торных мышей	Наличие плазмид			Наличие хромосом-ных локусов		
	Гли-церин	Моче-вина	Ни-траты	Рам-ноза									pFra (ген <i>cafI</i>)	pPst (ген <i>pla</i>)	pCad (ген <i>lcrV</i>)	<i>3a</i>	<i>irp2</i>	<i>hmsH</i>
<i>Y. pestis</i> 231	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Y. pestis</i> 6205	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Y. pestis</i> 6215	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Y. pestis</i> 770	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Y. pestis</i> EB	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-

мы (ДММ, версия 2.1.0.0.) аппаратно-программного комплекса МЕКОС-Ц.

Для бактериологического исследования из внутренних органов и крови биомodelей делали мазки-отпечатки и посевы на агар Хоттингера (рН 7,2).

Результаты и обсуждение

Животные, зараженные *Y. pestis* вирулентного штамма 231, пали в течение 2–3 сут. В мазках-отпечатках из внутренних органов (селезенка, печень, сердце) этих животных, окрашенных по Граму, наблюдали скопления грамотрицательных биполярных палочек. В посевах из внутренних органов регистрировали рост типичных по морфологии колоний чумного микроба, идентификация которого проводилась в реакции агглютинации с иммуноглобулинами чумными диагностическими флуоресцирующими. Во 2-й и 3-й группах не регистрировали гибели животных и выделения чумного микроба на 7-е сутки наблюдения.

Алгоритм комплексного патоморфологического исследования включал анализ изменений в месте входных ворот инфекции, морфометрическую характеристику адаптационно-компенсаторных реакций со стороны внутренних органов и описание состояния иммунной системы с учетом реакции клеток нейро-эндокринной системы (НЭК) макроорганизма.

В месте введения вирулентных чумных микробов штамма *Y. pestis* 231 наблюдали очаговые инфильтративные изменения в виде отека и клеточной инфильтрации полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПМЯЛ) дермы и подкожной клетчатки. В патологический процесс были вовлечены регионарные лимфатические узлы (РЛУ). В них регистрировали явления острого серозно-гнойного лимфаденита с признаками очагового периаденита: наблюдали умеренное набухание капсулы, десквамацию синусовых эндотелиальных клеток, присутствие ПМЯЛ в краевом, мозговом синусах и их скопления в мозговых тяжах, клетки в состоянии апоптоза и отсутствие четко очерченных фолликулов. У этих животных отмечали уменьшение количества аргиофильных (АГ) и аргентаффиновых

(АТ) НЭК в 5 и 3 раза соответственно по сравнению с интактным контролем. Аналогичная реакция была характерна и для НЭК в группе отдаленных лимфатических узлов (ОЛУ) (табл. 2), где проявления воспалительной реакции были значительно слабее и на фоне умеренного серозного лимфаденита сохранялись мелкие единичные фолликулы без признаков активности. В селезенке подопытных животных регистрировали явления серозно-геморрагического спленита: неравномерное полнокровие синусов, умеренную инфильтрацию их ПМЯЛ, очаговое набухание капсулы. Наблюдалось резкое угнетение кроветворной функции органа: количество мегакариоцитов (МКЦ) в 22 раза было ниже, чем у интактных мышей. Была резко снижена активность НЭК (табл. 2).

У биомodelей из 2-й и 3-й групп отмечали незначительное серозное пропитывание субдермальной клетчатки, в отдельных случаях имела место слабая, преимущественно мононуклеарная инфильтрация с примесью единичных ПМЯЛ межмышечной клетчатки (при заражении *Y. pestis* штамма 770). Регистрировали различной степени выраженности увеличение РЛУ от незначительного (при заражении *Y. pestis* штаммами 770 и 6205) и умеренного (при введении *Y. pestis* EB) до выраженного (на инокуляцию *Y. pestis* штамма 6215) без видимых очаговых изменений. ОЛУ и селезенка у всех биомodelей также не имели видимых изменений. При гистологическом исследовании наблюдали явления умеренного серозного лимфаденита РЛУ у мышей, зараженных штаммами *Y. pestis* 770 и 6205. На фоне изменения числа и активности фолликулов в срезе отмечали в той или иной степени выраженные признаки активации НЭК (табл. 2). В группе ОЛУ умеренный серозный лимфаденит был лишь у биомodelей, зараженных чумными микробами штамма *Y. pestis* 770. У животных из всех групп гиперпластические процессы в фолликулах были незначительными, бластическая реакция умеренная, а относительная активация НЭК наблюдалась только на введение культур штамма *Y. pestis* EB. Гиперпластические процессы в селезенке затрагивали в первую очередь периартериальные (Т) зоны, в центрах размножения фолликулов (В-зоны) отмеча-

Таблица 2

Морфометрическая характеристика состояния лимфоидных органов лабораторных белых мышей, зараженных *Y. pestis*

Орган	Определяемый морфометрический параметр	Штаммы <i>Y. pestis</i>					Интактный контроль
		6215	770	6205	231	ЕВ	
Селезенка	Длина органа в см (М±m)	2,6±1,05	2,2±0,95	2,0±0,32	2,8±0,94	2,4±0,89	1,9±0,64
	Число фолликулов в срезе (М±m), из них со светлыми центрами, %	8,4±1,17 23,8	7,5±0,96 26,7	6,8±0,65 29,41	2,0±0,89* 0	7,6±1,12 39,47	9,0±0,98 22,2
	Количество АГ клеток (М±m)	4,5±2,12	3,5±0,92	5,4±2,08	1,2±0,65*	3,6±1,21	6,17±4,13
	Количество АГ клеток (М±m)	2,75±0,69	2,3±0,96	4,0±1,91	0,75±0,02*	3,8±0,91	2,8±0,65
	Количество МКЦ (М±m)	2,3±1,96	1,57±0,27*	5,3±2,45	0,29±0,072*	2,78±1,17	6,25±2,74
РЛУ	Диаметр органа в см (М±m)	0,3±0,05	0,2±0,01	0,4±0,05	0,5±0,09	0,6±0,01	0,2±0,07
	Число фолликулов в срезе (М±m), из них со светлыми центрами, %	11,0±3,2* 36,4	6,1±2,2 0	5,6±2,7 0	0 0	3,5±0,98 57,1*	4,75±0,65 21,05
	Количество АГ клеток (М±m)	6,7±3,17	3,6±2,12	5,4±2,08	1,2±0,17	5,96±0,64	4,1±2,11
	Количество АГ клеток (М±m)	3,1±0,65	2,3±0,96	2,75±0,69	0,6±0,02*	3,8±0,91	2,9±1,85
ОЛУ	Диаметр органа в см (М±m)	0,3±0,02	0,4±0,05	0,3±0,02	0,4±0,07	0,5±0,02	0,3±0,04
	Число фолликулов в срезе (М±m), из них со светлыми центрами, %	4,0±1,22 25	5,1±2,4 39,2	2,0±0,45 0	2,1±0,78 0	4,2±1,24 23,8	3,7±0,35 27,01
	Количество АГ клеток (М±m)	3,1±0,89	2,1±0,64	3,75±1,65	1,8±0,65*	4,5±0,98	3,9±1,86
	Количество АГ клеток (М±m)	2,1±0,32	0,7±0,08*	1,83±0,62	1,05±0,32*	2,9±0,42	2,3±0,64

*Достоверность $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю.

ли умеренную пролиферацию В-лимфобластов. На фоне относительной активации фолликулов в селезенке, реакция со стороны НЭК носила обратный характер в сравнении с лимфатическими узлами. У этих животных количество АГ клеток в селезенке было ниже, чем у интактного контроля, а АГ несколько увеличивалось у мышей, зараженных культурами штаммов *Y. pestis* 770 и ЕВ (табл. 2).

Во внутренних органах подопытных животных отмечали различной силы гемодинамические и дистрофические нарушения. У мышей 1-й группы регистрировали резкие дистрофические процессы со стороны гепатоцитов, подтверждаемые изменением ядерно-цитоплазматического индекса (ЯЦИ) и деструктивного индекса (ДИ). Характерным для течения инфекционного процесса, обусловленного инокуляцией вирулентных культур *Y. pestis*, было развитие блока ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) органа, проявляющегося в почти пятикратном снижении количества клеток РЭС по отношению к аналогичному показателю у интактного контроля. Наблюдалось до 7,0±2,45 крупных, размером более 30 клеток, очагов инфильтрации, преимущественно ПМЯЛ и мелкие гранулемы (до 2 в срезе) с очагом некроза в центре. Отмечали явления застоя в системе оттока крови (изменение площади (Scв) центральных вен) в органе на фоне относительного запустения внутридольковых синусоидальных гемокапилляров (ВДСГ), характеризующих состояние гемодинамики в системе циркуляции крови (табл. 3).

У мышей из 2-й и 3-й групп дистрофические изменения гепатоцитов были умеренными, регистрировали относительное полнокровие центральных вен (ЦВ) и незначительные циркуляторные на-

рушения в системе ВДСГ. ЯЦИ во всех группах не отличался от показателя у животных из группы интактного контроля, а ДИ изменялся без достоверного отличия во 2-й и 3-й группах, но в 4–6 раз превышал аналогичный показатель у интактных животных (табл. 3). Клетки РЭС реагировали либо умеренной активацией (на введение *Y. pestis* вакцинного штамма и штамма *Y. pestis* 6215), либо незначительным торможением (при введении *Y. pestis* штаммов 770 и 6205). Прослеживалась определенная зависимость между уровнем активности РЭС печени и характером инфильтративных процессов в межуточной ткани органа. Так, более выраженное снижение числа клеток РЭС отмечали у животных, зараженных культурами штамма *Y. pestis* 770 при развитии достаточно выраженной инфильтративной реакции в органе. У мышей этой группы регистрировали до 29,1±1,65 мелких очагов в срезе печени, смешанной инфильтрации (ПМЯЛ, лимфоциты, гистиоциты) размером до 10 клеток, 10,0±2,17 более крупных очагов – до 20 клеток, единичную эпителиоидно-клеточную гранулему (у одного животного) с очагом распада в центре (табл. 3).

В почках мышей, зараженных *Y. pestis* штамма 231, отмечали выраженное полнокровие мозгового вещества на фоне относительного запустения сосудов коркового вещества органа. Количество почечных телец в срезе было в 2,5 раза меньше, чем у контрольных животных. При этом регистрировали увеличение площади сосудистых клубочков – за счет полнокровия капилляров и клеточной реакции. Часть клубочков в срезе были сморщены или находились в состоянии некробиоза. Эпителий извитых канальцев местами имел признаки гидропической дистрофии,

Таблица 3

Морфометрическая характеристика изменений во внутренних органах лабораторных белых мышей, зараженных *Y. pestis*

Орган	Определяемый морфометрический параметр	Штаммы <i>Y. pestis</i>					Интактный контроль
		6215	770	6205	231	ЕВ	
Печень	Количество РЭС (М±m)	13,5±3,41	6,67±2,83	8,8±2,95	2,14±0,89*	12,8±4,72	10,4±3,65
	ЯЦИ	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2
	ДИ	0,39	0,52	0,48	0,77	0,36	0,09
	S _{цв} (М±m), мкм ²	10845,78±4659,21	114413,52±99031,13	14116,63±2164,02	2681683,56±59461,34*	15279,61±3298,75	14048,35±2336,85
	S _{вдст} (М±m), мкм ²	1752,74±965,11*	1169,85±321,45*	2759,65±792,50*	875,24±278,32*	16978,45±1268,30	32189,63±2708,7
Почки	Число почечных телец в поле зрения среза (М±m)	11,0±2,83	13,6±6,29	12,3±7,35	7,12±1,48*	14,5±3,45	17,9±4,65
	S почечных телец (М±m), мкм ²	16216,94±4164,64	22695,63±4315,29	18287,67±3219,64	26931,86±15517,20*	19016,25±4236,61	16204,56±2498,43
	S сосудистых клубочков (М±m), мкм ²	8226,58±2381,78	8964,29±1978,96	7583,06±509,73	25499,29±10871,22*	10536,66±3603,92*	9506,70±1699,03
Легкие	ПВО	9,56*	9,45*	13,1	3,28*	14,9	21,45
	Число АТ клеток (М±m)	5,5±1,95	6,56±3,12*	3,75±1,17	7,80±2,45*	3,98±0,65	4,5±1,84

Примечания: *Достоверность $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю; S – площадь.

вплоть до некробиоза отдельных клеток.

У животных из 2-й и 3-й групп не отмечали резкого полнокровия капилляров коркового вещества органа, а показатель средней суммарной площади капилляров (S капилляров) в срезе достоверно не отличался по величине от аналогичного показателя у контрольных мышей. Введение вакцинного штамма *Y. pestis* ЕВ вызывало некоторое увеличение данного показателя, в основном за счет полнокровия капилляров сосудистых клубочков (табл. 3). В мозговом веществе полнокровия сосудов не отмечали, а дистрофические изменения эпителия канальцев были минимальными. Количество клубочков в срезе животных этих групп практически не различалось, и было близко к показателю у контрольных мышей. У биомоделей из 2-й группы практически отсутствовали изменения в сосудистых клубочках, а из 3-й – регистрировали умеренное полнокровие капиллярных петель в них.

При введении *Y. pestis* вирулентного штамма 231 в легких развивались неравномерное полнокровие сосудов и очаговая инфильтративная реакция с примесью ПМЯЛ. В отдельных альвеолах и мелких бронхах наблюдали скопление серозного экссудата и небольшое количество слущенных клеток – субмиллиарные очаги серозно-десквамативной бронхопневмонии. Участки эмфизематозной измененной легочной ткани, соседствовали с зонами дистелектазов. Количество НЭК в органе увеличивалось в 2 раза, наблюдали резкую активацию гистохимической реакции в них (табл. 3). Регистрировали изменение перфузионно-вентиляционного отношения в легких (ПВО) за счет резкого полнокровия капилляров межальвеолярных перегородок и межуточной инфильтрации легочной ткани. Показатель ПВО у мышей этой группы был в 6,5 раз ниже, чем у интактных контрольных животных.

Видимые изменения в легких животных из 2-й и 3-й групп отсутствовали. При гистологическом исследовании в легких биомоделей наблюдали микроскопические единичные очаги, чаще мононуклеарной природы, иногда с примесью ПМЯЛ в инфильтрате. На введение культур вакцинного штамма регистрировали достаточно выраженные пролиферативные процессы в периартериальных и перибронхиальных лимфоидных скоплениях, появление в них бластических элементов. АТ клетки в легочной ткани мышей, зараженных подкожно *Y. pestis* вакцинного штамма ЕВ и штамма 6205, находились в опустошенном состоянии, их количество было несколько ниже, чем у контрольных животных. ПВО у этих биомоделей не более чем в 1,6 раза был ниже показателя интактного контроля. В то время как у мышей, зараженных *Y. pestis* штаммов 6215 и 770, на фоне относительной активации синтетических процессов в АТ клетках и увеличения их числа (табл. 3) отмечали снижение ПВО более чем в 2,3 раза по сравнению с контрольным.

Несмотря на отсутствие гибели животных, зараженных *Y. pestis* штаммами 770, 6205, 6215, и развития у них грубых нарушений со стороны систем жизнеобеспечения, регистрируемые умеренные патоморфологические изменения во внутренних органах отражали развитие адаптационно-компенсаторных реакций. Эти штаммы по результатам микробиологического анализа по культурально-морфологическим свойствам и фенотипическим характеристикам обладали типичными признаками *Y. pestis*, за исключением признака пигментсорбции. По данным генетического анализа, была выявлена элиминация *hms*- и *ybt*-локуса из генома этих штаммов, что, по видимому, свидетельствует о полной утрате острова высокой патогенности из состава их хромосомы. До последнего времени продукты хромосомного ло-

куса, обозначаемого HPI (high-pathogenicity island) чумного микроба, относили к числу «обязательных» факторов его патогенности [2, 3, 14]. Хотя, из других источников следует, что HPI, содержащий кластер генов ассоциированных с «высокой летальностью» для мышей, в тоже время не несет ни одной детерминанты, напрямую связанной с патогенностью. А гены, входящие в HPI, кодируют продукцию иерсиниабактина, хелатирующего железа, связанное с белками эукариотических клеток и трансформирующего эти соединения в микробную клетку [13, 15, 17], то есть отвечают за размножение патогенов в макроорганизме, а не за прямое повреждение эукариотических клеток [1, 16]. В то же время отсутствие гибели мышей во 2-й группе укладывается в общую картину течения чумной инфекции у этой биомодели при заражении HPI-мутантами [19]. Хотя избирательная потеря способности к экспрессии только генов, отвечающих за признак пигментсорбции, локализованных в составе HPI, не приводит к снижению вирулентности Hms⁻ мутантов возбудителя чумы [20].

Выявленные при гистологическом исследовании изменения ряда морфометрических характеристик у животных 2-й группы определяют интерес к дальнейшему углубленному изучению таких штаммов, в том числе с использованием высокочувствительных биомоделей, с позиции уточнения роли HPI для утраты вирулентности атипичными культурами.

Таким образом, расширив традиционное морфологическое описание изменений у биомоделей элементами морфометрического анализа и характеристикой состояния апудоцитов в ряде органов, были получены сведения о формировании адаптационно-компенсаторных процессов в функциональных системах детоксикации и адаптации биомоделей в условиях моделирования экспериментальной чумной инфекции. Использование для воспроизведения инфекционного процесса атипичных культур *Y. pestis* показало необходимость дальнейшего всестороннего изучения молекулярных основ патогенности чумного микроба в совокупности с всеобъемлющим выяснением патогенетических аспектов их влияния на макроорганизм, что позволит достигнуть полного понимания патогенеза данного заболевания и раскрытия глубоких механизмов адаптации патогена в организме чувствительного хозяина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2002; 3:3–23.
2. Кокушкин А.М. Социальные и биологические аспекты эпидемиологии чумы [автореф. дис. ... д-ра мед. наук]. Саратов; 1995. 32 с.
3. Кутырев В.В. Генетический анализ факторов вирулентности возбудителя чумы [автореф. дис. ... д-ра мед. наук]. Саратов; 1992. 38 с.
4. Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984.

480 с.

5. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир; 1969. 645 с.
6. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969. 423 с.
7. Методические указания 3.5.51034-01. Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I–IV групп патогенности при работе методом ПЦР. М.; 2001.
8. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2006 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. 360 с.
9. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука; 1981. 288 с.
10. Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во Иностранная литература; 1962. 962 с.
11. Попов Н.В., Безсмертный 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.
12. Руководство по профилактике чумы. Саратов, 1992. 278 с.
13. Смирнова Н.И., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических особенностей геномов и их эволюционных преобразований у возбудителей холеры, чумы и сибирской язвы. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2006; 2:9–19.
14. Bearden S.W., Fetherston J.D., Perry R.D. Genetic organization of the yersiniabactin biosynthetic region and construction of avirulent mutants in *Yersinia pestis*. Infect. Immun. 1997; 65:1659–68.
15. Buchrieser C., Rusniok C., Frangeul L. et al. The 102-kilobase pgm locus of *Yersinia pestis* sequence analysis and comparison of selected regions among different *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains. Infect. Immun. 1999; 67(9):4851–61.
16. Carniel E. The *Yersinia* High-Pathogenicity Island. В кн.: Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика. СПб; 2000. С. 74.
17. Geoffroy V.A., Fetherston J.D., Perry R.D. *Yersinia pestis* YbtU and YbtT are involved in synthesis of the siderophore Yersiniabactin by have different effects on regulation. Infect. Immun. 2000; 68(8):4452–61.
18. Grimelius L. A silver nitrate stain for 12 cells in human pancreatic islets. Acta Soc. Med. upsaliensis. 1968; 73:243–70.
19. Jackson S., Burrows T.W. The virulence enhancing effect of iron on non-pigmented mutants of virulent strains of *P. pestis*. Br. J. Exp. Pathol. 1956; 37:577–83.
20. Lillard J.W. Jr., Bearden S.W., Fetherston J.D. et al. The haemin storage (Hms⁺) phenotype of *Yersinia pestis* is not essential for the pathogenesis of bubonic plague in mammals. Microbiology. 1999; 145:197–209.

S.A.Bugorkova, V.E.Kouklev, T.V.Bugorkova, Z.V.Malykhina, V.V.Kutyrev

Comparative Morphometric Analysis of Experimental Plague Infection Caused by *Yersinia pestis* Strains with Different Genetic Characteristics

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

Data on adaptive-compensatory process formation in detoxication and adaptation functional systems of test animals during the plague infection modeling were obtained by means of morphometric analysis. The latter included characterization of apudocytes condition in the number of organs. Changes of apudocytes activity and quantity in immunocompetent organs and pulmonary tissue of biomodels were determined. Morphometric indices selected for registration were shown to allow characterizing the severity of experimental infectious process.

Key words: strains, plague microbe, morphometry, apudocytes.

Об авторах:

Бугоркова С.А. (зав. сект.), Куклев В.Е. (н.с.), Бугоркова Т.В. (с.н.с.), Малихина З.В. (н.с.). Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Тел. (845-2) 73-46-48. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 09.06.08.

С.С.Ветчинин¹, П.Х.Копылов¹, Н.В.Киселева¹, А.М.Баранов¹,
Е.В.Баранова¹, Е.В.Галкина¹, А.И.Борзилов¹,
И.Я.Калачев²

ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЕЛКАМ НАРУЖНОЙ МЕМБРАНЫ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* ШТАММА C-141

¹Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск;

²Филиал института биоорганической химии РАН им. академиков М.М.Шемякина
и Ю.А.Овчинникова, Пущино, Московская обл.

Моноклональные антитела получали к очищенным мембранным белкам *B. pseudomallei* с молекулярными массами 29 (p29) и 45 кДа (p45). Антитела клонов 4F2 и 1G11 специфически взаимодействовали в непрямом иммуноферментном анализе (ИФА) и иммуноблоте с белком p29 *B. pseudomallei* и *Burkholderia mallei*. Антитела клона 3G4 обладали сродством преимущественно к белковой структуре, связанной с ЛПС этих микроорганизмов. Результаты анализа взаимодействия антител 4F2 и 1G11 с антигенами клеточных лизатов различных возбудителей подтвердили их высокую специфичность к белку p29 *B. pseudomallei* и *B. mallei*.

Ключевые слова: *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, белки наружных мембран, моноклональные антитела.

Клинические формы мелиоидоза варьируют от острой септической до хронически протекающей инфекции. Септическая форма встречается примерно у 60 % пациентов, большинство из которых умирает в течение 2–3 дней, при этом до 20 % больных погибает при проведении антибиотикотерапии. До четверти пациентов остаются носителями инфекции с рецидивами после хемо- и антибиотикотерапии [15]. Возбудитель мелиоидоза в хронической фазе инфекции может скрытно персистировать месяцы и годы, индуцируя неожиданные проявления болезни, которые появляются на фоне иммуносупрессивных состояний, вследствие травм, ожогов, после введения стероидов, цитостатиков, на фоне диабета, бактериальных и химических интоксикаций [3]. В связи с этим чрезвычайно важна не только ранняя диагностика мелиоидоза для эффективного лечения, но и периодический контроль как в процессе лечения заболевших, так и после него.

Последнее десятилетие характеризуется увеличением интенсивности исследований, посвященных антигенам бактерий *B. pseudomallei* [1, 2, 6]. Среди них мембранные белки традиционно являются диагностически значимыми. В частности, описана перспективность использования для идентификации возбудителя мелиоидоза антител к поверхностным белкам 19,5, 30, 39 kDa [7, 13]. Проведенная нами ранее *in vitro* оценка иммуногенности антигенов бактерий рода *Burkholderia* показала, что перспективными кандидатами для использования в составе потенциальных вакцин являются мембранные белки p29 (29 кДа) и p45 (45 кДа) [4, 5]. Цель настоящего исследования состояла в получении моноклональных антител (МКАТ) к высокоочищенным мембранным белкам 29 и 45 kDa возбудителя мелиоидоза и исследование возможности использования МКАТ для диагностики.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия культивирования. В работе использовали бактериальные штаммы из коллекции ФГУН ГНЦ ПМБ: *B. pseudomallei* C-141, *B. mallei* C-5, *Proteus vulgaris* 104g, *Micobacterium tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* H37Ra, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Yersinia pseudotuberculosis* Pfeifer, *Yersinia enterocolitica* H2604, *Bacillus cepacia* ATCC 17759, *B. cepacia* BTX, *B. cepacia* ATCC 17769, *Bacillus anthracis* СТИ-1, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Legionella pneumophila* ATCC 33153, *Salmonella typhimurium* 79, *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, *Listeria monocytogenes* NCTC 11994, *Francisella tularensis* 15/10.

Для выделения мембранных белков использовали культуру штамма *B. pseudomallei* C-141, выращенную на плотной питательной среде (ППС) на основе агар, содержащего LB с добавлением 1 % глицерина, 1,2 мМ $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ и 0,1 мМ $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. Культивирование проводили в течение 24 ч при 37 °С, после чего микробные клетки смывали раствором 0,15 М NaCl. В суспензии определяли концентрацию живых клеток высевом десятикратных разведений на ППС и контролировали чистоту культуры микроскопией мазков, окрашенных по Граму. Суспензию клеток стерилизовали γ -облучением в дозе $1,2 \cdot 10^4$ Зв, замораживали и хранили при –70 °С. Стерильность облученных препаратов подтверждали бактериологически и биопробами на золотистых хомьяках.

Выделение мембран. Фракции мембран получали из разрушенных ультразвуком клеток *B. pseudomallei* по методу Gotoh *et al.* [9]. Очищенные мембраны суспендировали в 0,5 мл 30 мМ трис-HCl (pH 8,0) буферного раствора и определяли в пробах концентрацию общего белка, активность сукцинатдегидрогена-

зы по восстановлению 2,6-дихлорфенолиндифенола, замораживали и хранили при -70°C [12].

Электрофорез в полиакриламидном геле. Электрофорез как в аналитическом, так и препаративном вариантах, проводили по методу Лэмли в редуцирующих условиях [10]. Перед разделением пробы смешивали в соотношении 1:1 с буфером, содержащим 125 мМ трис-НСI (рН 6,8), 4 % додецилсульфата натрия, 20 % глицерина, 10 % 2-меркаптоэтанола, 0,02 % бромфенолового синего и прогревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин. Белки в гелях окрашивали Кумасси G-250, для выявления ЛПС использовали метод Fomsgaard *et al.* [8].

Выделение мембранных белков. После электрофоретического разделения мембранные белки экстрагировали из измельченных полос полиакриламидного геля (2,5 мм $\times$ 3,0 мм $\times$ 140 мм) буферным раствором, содержащим 30 мМ трис-НСI (рН 8,0), 6 М мочевины, 2 % тритона X-100 и осаждали при -20°C двойным объемом ацетона. Осадки промывали ацетоном, сушили, растворяли в ФСБР, содержащим 2 % нонаноил-N-метилглуконида (Sigma, США) и анализировали в ДСН электрофорезе. Пробы, содержащие гомогенные белки с одинаковой молекулярной массой, объединяли и подвергали повторной очистке тем же способом. Очищенные препараты хранили при -70°C .

Выделение липополисахаридов. Липополисахариды (ЛПС) *B. pseudomallei* получали водно-фенольной экстракцией [14].

Получение моноклональных антител. Мышей линии BALB/c иммунизировали подкожно 100 мкг антигенов р29 и р45 с полным адъювантом Фрейнда в соотношении 1:1, через 30 дней проводили повторную иммунизацию с неполным адъювантом. Далее следовали три внутривенные инъекции по 20 мкг соответствующих антигенов с десятидневными промежутками. Для гибридизации использовали спленоциты мышей с титрами сыворотки в иммуноферментном анализе (ИФА) не менее 1:10000. Слияние миеломных клеток линии РЗ-Х63-Аg8.653 со спленоцитами иммунных мышей проводили с использованием 50 % полиэтиленгликоля (вес/объем) и 5 % ДМСО (объем/объем), рН 8,0 [11]. Селекцию гибридных клеток проводили на среде RPMI 1640, содержащей 20 % (объем/объем) эмбриональной сыворотки теленка, 1 мМ L-глутамина, 1 мМ гипоксантина, 0,1 мМ тимидина и 0,3 мкМ аминоптерина (Sigma, США). Скрининг гибридных клеток, продуцирующих МКАТ, проводили с помощью ИФА. Выбранные продуценты клонировали методом предельных разведений. Для получения препаративных количеств МКАТ мышам линии BALB/c вводили внутривенно 0,5 мл пристана (Химмед, Россия) и через две недели – $1 \cdot 10^7$ гибридных клеток. Моноклональные антитела выделяли из асцитической жидкости мышей аффинной хроматографией на колонках, упакованных сефарозой с иммобилизованным белком А.

Иммуноблот. Белки переносили на нитроцеллю-

лозные мембраны в режиме постоянного тока 380 мА в течение 1,5 ч. Неспецифическое связывание блокировали 5 % раствором (вес/объем) обезжиренного молока в фосфатно-солевом буфере, содержащем 0,05 % (объем/объем) твина-20 (ФСБТ). Дальнейшие этапы включали инкубации мембран в растворах МКАТ и конъюгата антимишанных антител с пероксидазой хрена (Sigma, США). Продолжительность инкубаций составляла 1 ч при 37°C . Окраску проводили раствором, содержащим 2,2 мМ 3,3'-диаминобензидина, 0,02 % NiCl_2 и 0,015 % перекиси водорода в 50 мМ трис буфере (рН 7,4).

Иммуноферментный анализ. Планшеты сенсibiliзировали соответствующими мембранными белками, растворенными в 0,1 М карбонатном буфере (рН 9,6), по 1 мкг в лунку в течение 18 ч при 4°C . Неспецифическую сорбцию блокировали ФСБТ, содержащим 5 % фетальной сывороткой теленка (объем/объем). Для промежуточных промывок и разведения рабочих растворов МКАТ и конъюгата антимишанных антител с пероксидазой хрена использовали этот же буфер. Длительность инкубаций не превышала 1 ч при 37°C . Субстратом служил 0,1 % раствор о-фенилендиамина и 0,03 % перекиси водорода в 50 мМ цитрат-фосфатном буфере (рН 5,0). Реакцию останавливали через 10 мин добавлением в рабочие лунки 50 мкл 2 М раствора серной кислоты.

Определение подклассов мышинных моноклональных антител проводили с использованием ИФА-набора реагентов (Sigma, США) по инструкции производителя.

Результаты и обсуждение

Характеристика выделенных мембран и мембранных белков. Очищенные препараты мембран различались белковым составом и содержанием ЛПС. Наименьшее значение активности сукцинат-дегидрогеназы соответствовало фракциям тяжелой части градиента сахарозы. Электрофорез показал наличие мажорных и минорных белков в препаратах мембран, положение которых в полиакриламидных гелях в основном соответствовало литературным данным [9]. Использование 6 М раствора мочевины обеспечивало высокий уровень экстракции мембранных белков (до 120 мкг белка из одной полосы геля после препаративного электрофореза). После оценки иммуногенности [4, 5] препараты белков р29 и р45, выбранные для внутривенной иммунизации мышей и анализа МКАТ, повторно разделяли электрофорезом, экстрагировали и осаждали ацетоном (рис. 1, линии 2, 3, 4, 5).

Получение гибридом и анализ моноклональных антител. После гибридизации клетки высевали на 96-луночные планшеты, содержащие селективную среду. Скрининг культуральной жидкости (КЖ) на наличие моноклональных антител дал положительную реакцию в 8 лунках для белка р29 и 4 лунках для р45. Их повторная проверка в ИФА с дополнительно

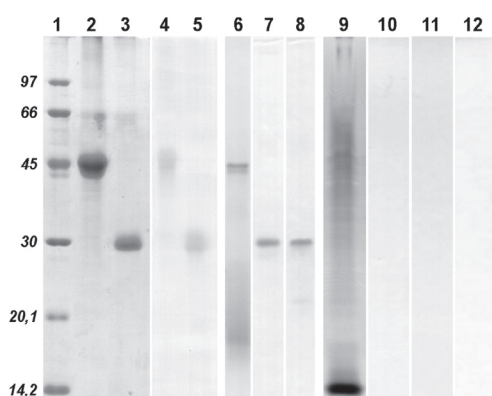


Рис. 1. Электрофорез и иммуноблот препаратов очищенных белков p45, p29 и ЛПС *B. pseudomallei*:

Числами в верхней части геля обозначены номера линий: 1 – маркеры молекулярных масс, кДа; курсивом справа; 2, 4, 6 – белок p45; 3, 5, 7, 8 – белок p29; 9, 10, 11, 12 – ЛПС *B. pseudomallei* C-141. Гель окрашен кумасси G-250, линии 1 – 3; окраска серебром с окислением, линии 4, 5, 9; блоты обработаны моноклональными антителами: 3G4 – линии 6, 10; 1G11 – линии 7, 11; 4F2 – линии 8, 12

очищенными белками показала уменьшение взаимодействия антител для большинства КЖ. Только для КЖ лунок 1G11, 4F2 (белок p29) и для 3G4 (белок p45) связывание МКАТ с белками сохранялось на первоначальном уровне. Обработка белковых препаратов протеиназой К приводила к потере взаимодействия антигена с МКАТ гибридом 1G11, 4F2 и 3G4 в ИФА, что свидетельствовало о родстве антител именно к белковой части препарата. Гибридные клетки этих лунок клонировали и использовали для наработки МКАТ как в культуре клеток, так и в мышах.

Моноклональные антитела полученных гибридом относились к IgG1. В непрямом твердофазном ИФА и иммуноблоте моноклональные антитела не взаимодействовали с ЛПС возбудителя мелиоидоза (рис. 1, линии 10, 11, 12). Специфичность полученных МКАТ к белкам p29 и p45 проверяли иммуноблотом (рис. 1, линии 6, 7, 8). Моноклональные антитела 1G11 и 4F2 выявляли мажорную полосу в области 29 кДа, совпадающую с молекулярной массой специфического белка. Антитела клона 3G4 выявляли в препарате p45, не только ожидаемую полосу в области 45 кДа, но и дополнительную диффузную полосу с наибольшей интенсивностью окраски в области 17 кДа. (рис. 1, линия 6).

Перекрестную активность МКАТ 3G4, 1G11, 4F2 анализировали в иммуноблоте с панелью антигенных препаратов 17 микроорганизмов, включая *B. pseudomallei* C-141 и *B. mallei* C-5. Антигенные препараты представляли собой ультразвуковые дезинтеграты микроорганизмов. По данным иммуноблота МКАТ, 3G4 активно взаимодействовали не только с антигенным профилем *B. pseudomallei*, но и *B. mallei* в диапазоне молекулярных масс от 55 до 15 кДа. Характер взаимодействия свидетельствует о сложной природе специфической мишени для данных антител (рис. 2А, линии 17, 18). Моноклональные антитела клонов 1G11 и 4F2 показали высокую специфичность к p29 *B. pseudomallei* и *B. mallei* (рис. 2Б

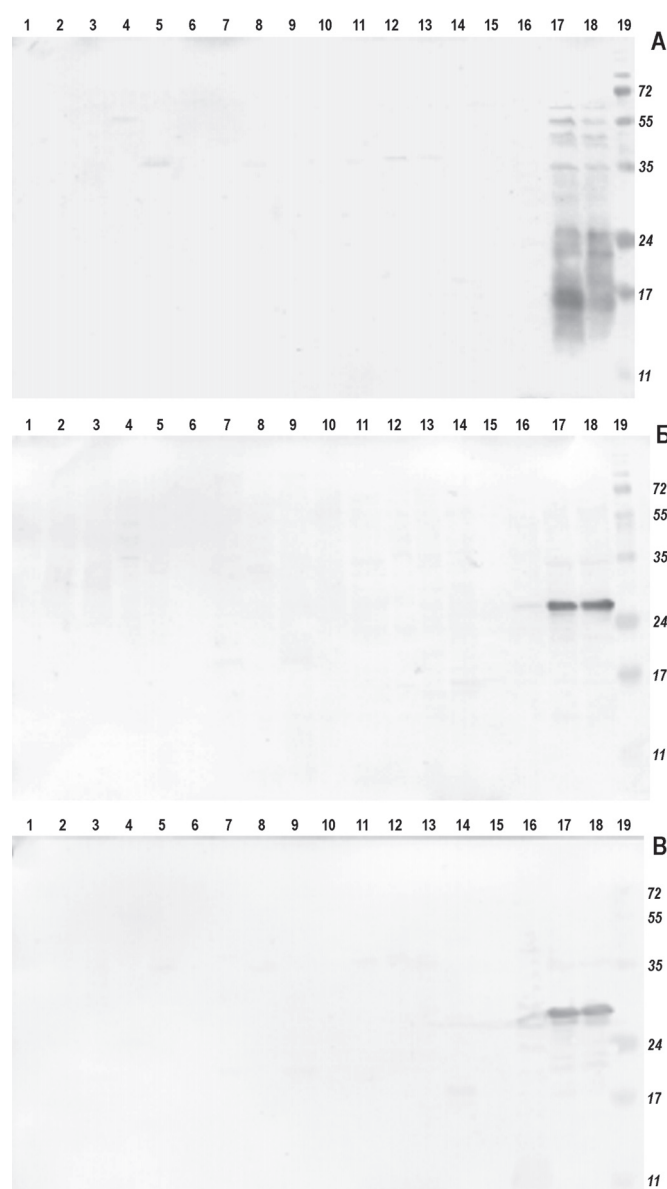


Рис. 2. Иммуноблот лизатов бактериальных культур с МКАТ против белков p45, p29 *B. pseudomallei*:

Числами обозначены номера линий в верхней части каждой мембраны. Иммуноблоты обрабатывали МКАТ: А – 3G4; Б – 1G11; В – 4F2. Линии: 1 – *P. vulgaris* 104g; 2 – *M. tuberculosis* H37Rv; 3 – *M. tuberculosis* H37Ra; 4 – *P. aeruginosa* ATCC 27853; 5 – *Y. pseudotuberculosis* Pfeiffer; 6 – *Y. enterocolitica* H2604; 7 – *B. cepacia* ATCC 17769; 8 – *B. cepacia* BTX; 9 – *B. cepacia* ATCC 17759; 10 – *B. anthracis* СТИ-1; 11 – *E. coli* ATCC 10536; 12 – *L. pneumophila* ATCC 33153; 13 – *S. typhimurium* 79; 14 – *Y. pestis* EV НИИЭГ; 15 – *L. monocytogenes* NCTC 11994; 16 – *F. tularensis* 15/10; 17 – *B. pseudomallei* C-141; 18 – *B. mallei* C-5; 19 – маркеры молекулярных масс, кДа, курсивом слева

и 2В, линии 17, 18). Перекрестное взаимодействие моноклональных антител, полученных к белкам *B. pseudomallei*, с белками *B. mallei* показывает гомологию соответствующих белков этих микроорганизмов в структуре наружной мембраны. Слабо выраженные полосы на иммуноблоте с лизатами *P. aeruginosa*, *Y. pseudotuberculosis*, *L. pneumophila*, *S. typhimurium* (рис. 2А, линии 4, 5, 12, 13 на мембране А) могут свидетельствовать о наличии сходных структур в составе лизатов исследуемых грамотри-

цательных микроорганизмов.

Таким образом, на основании анализа перекрестных реакций полученных МКАТ 1G11, 4F2 и 3G4 было установлено, что антитела обладают выраженной специфичностью к белкам p29 и p45 возбудителей сапа и мелиоидоза.

Работа поддержана грантом № 1176 Международного научно-технического центра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авророва И.В., Пивень Н.Н., Жукова С.И. и др. Журн. микробиол. 2004; 5:29–33.
2. Викторов Д.В., Меринова Л.К., Алексеев В.В. и др. Мол. генет. 2005; 4:17–21.
3. Захарова И.Б., Викторов Д.В., Меринова О.А. и др. Пробл. особо опасных инф. 2006; 1(91):35–8.
4. Иванова О.А., Ганина Е.А., Борзилов А.И. и др. В кн.: Матер. VII межгос. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ. Оболensk; 2006. С. 145–6.
5. Калачев И.Я., Борзилов А.И., Иванова О.А. и др. В кн. Матер. научн. конф. Предотвращение распростр. биол. оружия. The Cooper. Biol. Res. Ann. Rev. СПб; 2004. С. 42–4.
6. Пивень Н.Н., Рыбкин В.С., Плеханова Г.Н. и др. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2001; 1:29–33.
7. Anuntagool N., Rugdech P., Sirisinha S.J. Clin. Microbiol. 1993; 31:1232–6.
8. Fomsgaard A., Freudenberg M.A., Galanos C. J. Clin. Microbiol. 1990; 28:2627–31.
9. Gotoh N., White N.J., Chaowagul W. et al. Microbiology. 1994; 140:797–805.
10. Laemmli U.K. Nature. 1970; 227:680–5.
11. Nowinski R.C., Lostrom M.E., Tam M.R. Virology. 1979; 93:111–26.
12. Owen P., Freer J.H. Biochem. J. 1970; 120:237–43.
13. Pongsunk S., Thirawattanasuk N., Piyasangthong N. et al. J. Clin. Microbiol. 1999; 37:3662–7.
14. Westphal A., Lann H. Meth. Carbohydr. Chem. 1965; 5:83–91.

15. Wuthiekanun V.D., Dance A.B., Chaowagul W. et al. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. 1990; 9:654–8.

S.S.Vetchinin, P.C.Kopylov, N.V.Kiseleva, A.M.Baranov, E.V.Baranova, E.V.Galkina, A.I.Borziylov, I.Y.Kalachev

Production of Monoclonal Antibodies against Outer Membrane Proteins of *Burkholderia pseudomallei*, Strain C-141

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology,
Obolensk; Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute
of Bioorganic Chemistry, Pushchino, Moscow Region

Monoclonal antibodies (MAb) were produced against two *B. pseudomallei* high-purified membrane proteins with Mr 29 kDa (p29) and 45 kDa (p45). Monoclonal antibodies from culture supernatant fluids of 4F2 and 1G11 clones showed specific interaction with protein moiety of p29 both *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* in ELISA and Western blotting. However, MAb of 3G4 clone were bound to the LPS-protein structures of these microbial cells. Analysis of interaction of Mabs from 4F2 and 1G11 clones with antigens of different lysates of pathogenic cells confirmed high specificity of these antibodies to p29 membrane protein of *B. pseudomallei* and *B. mallei*.

Key words: *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, outer membrane proteins, monoclonal antibodies.

Об авторах:

Ветчинин С.С. (зав. сект.), Копылов П.Х. (зав. сект.), Киселева Н.В. (с.н.с.), Баранов А.М. (зав. отд.), Баранова Е.В. (вед.н.с.), Галкина Е.В. (н.с.), Борзилов А.И. (зав. лаб.). ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk. E-mail: vetchinin@obolensk.org

Калачев И.Я. (с.н.с.). Филиал института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН. Пушино, Московская обл. E-mail: trust-org@ipac.ac.ru

Поступила 14.03.08.

Правительственная телеграмма

Уважаемые коллеги!

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека сердечно поздравляет коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» с 90-летним юбилеем. Богатые традиции, заложенные основателями института и учеными, получившими мировое признание, достойно продолжают квалифицированные и преданные своему делу кадры, которые позволяют нам успешно решать задачи по охране здоровья населения России – одной из благороднейших миссий на земле.

Институт сохраняет статус ведущего научного центра, разрабатывающего перспективные направления научно-исследовательских работ в области эпидемиологии, и является головным учреждением координационного совета по проблемам санитарной охраны территории государственных участников содружества независимых государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней.

Выражаю уверенность, что профессиональный опыт и знания сотрудников института будут достойным вкладом в дело обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Примите самые искренние пожелания здоровья, счастья и успешной работы на благо нашей великой Родины.

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
Г.Г.Онищенко

РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ» (К 90-ЛЕТИЮ)

Российскому научно-исследовательскому противочумному институту «Микроб» в 2008 г. исполнилось 90 лет. Это один из крупнейших научно-исследовательских и противоэпидемических центров России.

История становления института «Микроб» неразрывно связана с организацией системы противочумных учреждений – единственной в мире специализированной противоэпидемической и профилактической службы, создание которой было обусловлено особенностями природных очагов инфекций и интенсивным освоением свободных территорий СССР. Эпидемии чумы, холеры и других опасных инфекций нередко вспыхивали на Юго-Востоке России и, как опустошительный смерч, проносились по всей стране.

После Ветлянской чумы 1878–1879 гг. были заложены основы для создания в России противочумных лабораторий. Впервые в России противочумные мероприятия осуществляли сотрудники Императорского Института Экспериментальной Медицины (ИИЭМ) и созданной при нем в Кронштадте специальной «чумной» лаборатории, которая открылась в 1897 г. в форте «Александр I» на острове Финского залива, а также противочумных лабораторий и пунктов в портовых городах Юга и Востока России, в других ре-

гионах, где чума появлялась регулярно (Юг Сибири и Дальнего Востока).

Координатором и организатором противочумной работы был принц А.П.Ольденбургский, возглавивший «Особую комиссию для предупреждения занесения чумной заразы и борьбы с нею в случаях появления в России» («Комочум»).

После революции 1917 г. «Особая лаборатория» прекратила свое существование, но катастрофически бурное развитие эпидемий в стране диктовало необходимость создания научно-методического учреждения, которое обеспечило бы снижение заболеваемости населения России наиболее опасными инфекционными болезнями. В целях изучения эпидемиологии и микробиологии особо опасных инфекций академик Д.К.Заболотный предложил создать бактериологический институт в Саратове. Выбор Саратова для размещения ведущего научного противоэпидемического учреждения был обусловлен наличием медицинского факультета в Саратовском университете, высококвалифицированных специалистов, а также удобным географическим расположением города – в центре обширных очагов чумы Заволжья, Прикаспия и Юга России. Эту идею удалось осуществить благодаря активному содействию профессора Л.А. Богомольца и энергии последнего руководителя «Особой лабора-

тории» профессора А.И. Бердникова, возглавлявшего кафедру микробиологии Саратовского университета, а затем ставшего первым директором института. На базе кафедры 15 ноября 1918 г. был создан Краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока РСФСР – официальная дата образования института (решение коллегии Наркомздрава России от 15 ноября, протокол № 10). В 1919 г. к официальному названию института в качестве почтового кода присоединено название «Микроб».

В Уставе и Положении, утвержденных Наркомздравом РСФСР, так были определены задачи института: разработка научных и научно-практических вопросов в области эпидемиологии и микробиологии особо опасных инфекций, производство бактериальных препаратов, руководство сетью противочумных лабораторий Юго-Востока РСФСР и содействие местным органам здравоохранения в организации и проведении противоэпидемических мероприятий.

При большой помощи и поддержке Наркомздрава РСФСР коллектив института развернул оперативную и производственную работу на огромной территории, успешно провел мероприятия по созданию сети периферийных противочумных учреждений, организации производства бакпрепаратов.

В 1920 г. институт становится независимым от университета и получает новое название: Государственный краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока России Народного комиссариата здравоохранения РСФСР – «Микроб». Ему предоставлено отдельное помещение на улице Университетской г. Саратова. Он приобретает статус научного и оперативного центра страны по борьбе не только с чумой, но и другими особо опасными инфекциями.

На первом после революции противочумном совещании, состоявшемся в Саратове в мае 1920 г., выработана программа научной деятельности института и намечены мероприятия по восстановлению периферийных противочумных лабораторий Юго-Востока РСФСР. В 1922 г. под руководством института были объединены все противочумные лаборатории Юго-Востока России.

Значительным событием в истории развития противочумной системы явилось III краевое противочумное совещание, состоявшееся в мае 1923 г. в Саратове. Оно признало необходимым сосредоточить всю работу по борьбе с чумой на Юго-Востоке РСФСР в противочумном центре – институте «Микроб».

Сотрудники института активно подключались к организации и проведению борьбы с чумой, холерой, сыпным и брюшным тифом. Вспышка чумы (1923–1925 гг.) на территории Уральской, Астраханской, Калмыцкой автономной и других областей была подавлена в основном усилиями коллектива института «Микроб».

Начиная с 1923 г. институт организует работу по обследованию степей и пустынь для выявления эпи-

зоотий чумы среди грызунов. Противочумные организации стали переходить от борьбы со вспышками чумы к предупреждению заболеваний чумой, т.е. к профилактике.

Проблема развертывания широкой сети противочумных учреждений не могла успешно решаться без подготовки кадров. Эту задачу взял на себя институт «Микроб». С 1921 г. здесь начали работу курсы специализации врачей, в 1928 г. учреждена аспирантура.

Наряду с научно-исследовательской и производственной деятельностью институт широко развернул санитарно-просветительную работу, что помогло подготовить население к проведению профилактических мероприятий.

С 1932 г. институт «Микроб» становится центром, которому в методическом отношении были подчинены вновь создаваемые противочумные институты в Ростове-на-Дону, Иркутске, Ставрополе, Алма-Ате. По решению Совнаркома СССР с октября 1940 г. институт переведен в разряд медицинских учреждений союзного подчинения и получил название Государственный научно-исследовательский институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока СССР «Микроб».

В 1933 г. впервые в истории борьбы с чумой были осуществлены грандиозные по масштабам и исключительно эффективные для снижения численности грызунов-носителей чумы истребительские работы, в результате чего на огромной территории Северо-Западного Прикаспия и Волго-Уральского междуречья впервые в мире был осуществлен масштабный опыт подавления чумных очагов и оздоровления их на многие годы. Помимо этого, разрабатывались вопросы общей эпидемиологии: новые схемы противоэпидемических мероприятий при чуме и холере, принципы ликвидации природных очагов чумы, а также новые методы лечения легочной чумы; изучались особенности микробиологии и эпидемиологии бруцеллеза и туляремии.

В годы Великой Отечественной войны 70 сотрудников были мобилизованы в ряды Красной Армии, многие вступили в народное ополчение. В институте прошли подготовку сотни гражданских и военных врачей. Оказывалась научно-методическая и консультативная помощь санитарным управлениям ближайших фронтов, обеспечивался выпуск бакпрепаратов. Усиленная работа велась по предупреждению особо опасных инфекций в период Сталинградской битвы. Институт осуществлял методическое руководство противоэпидемическими мероприятиями, проводил бактериологические исследования. Большая работа велась в госпиталях Саратовской области. 129 сотрудников награждены медалями «За доблестный труд в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг.».

В послевоенные годы институт традиционно работал на передовых рубежах науки и здравоохранения. При этом результаты научных исследований в кратчайшие сроки внедрялись в практическую ра-

боту – охрану населения страны от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней и борьбу с эпидемиями.

За большие заслуги в развитии медицинской науки и советского здравоохранения и в связи с 50-летием со дня создания Указом Президиума Верховного Совета СССР от 3 октября 1968 г. институт награжден орденом Трудового Красного Знамени.

В 70–80-е годы в институте сформировались научные направления и велась углубленная работа по следующим проблемам: природная очаговость и эпидемиология особо опасных инфекций и методы обследования и ликвидации очагов; микробиология, иммунология, генетика и молекулярная биология, патогенез и терапия особо опасных инфекций; разработка и усовершенствование медицинских иммунобиологических препаратов для их профилактики и диагностики. В рамках этих проблем институт выполнял исследования, входившие в Государственные комплексные программы, комплексные программы Академии медицинских наук СССР.

В стенах института работали ученые, снискавшие мировую известность. Среди них С.М.Никаноров, Н.Н.Жуков-Вережников, В.Н.Федоров, Б.К.Фенюк, И.Г.Иофф, Ю.М.Ралль, А.А.Безсонова, Е.И.Коробкова, М.П.Покровская, В.М.Туманский. Успехи научно-практической деятельности института всегда определялись тесным сотрудничеством с ведущими специалистами других научно-исследовательских учреждений страны, такими как Д.К.Заболотный, Н.Ф.Гамалея, Е.Н.Павловский, О.В.Бароян, С.В.Прозоровский, В.Д.Беляков, Б.Л.Черкасский, В.И.Покровский.

В разные годы институтом руководили А.И.Бердников, С.М.Никаноров, Е.М.Гуревич, В.В.Сукнев, В.А.Бычков, Я.А.Усов, В.П.Смирнов, И.И.Елкин, Д.Г.Савостин, Н.И.Николаев, С.М.Рассудов, П.И.Анисимов, А.В.Наумов.

Новое поколение ученых и организаторов института «Микроб» продолжает развивать лучшие традиции основоположников противочумной системы.

После распада СССР и образования Российской Федерации изменилась организационная структура противочумной системы. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» в настоящее время является Федеральным государственным учреждением здравоохранения, подведомственным Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. С 1997 г. его возглавляет член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии В.В.Кутырев.

В настоящее время институт является крупнейшим научно-исследовательским учреждением, головным организационно-методическим центром по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации от завоза и распространения карантинных и других особо опасных инфекционных болезней.

Для координации научных исследований Министерством здравоохранения Российской Федерации и РАМН в 1993 г. при Российском НИПЧИ «Микроб» организован Научный совет по санитарной охране территорий Российской Федерации, в составе которого функционируют 5 проблемных комиссий по основным направлениям профилактики, диагностики и лечения особо опасных инфекционных болезней, а также противодействия биотерроризму.

На базе Научного совета в 2000 г. создан Координационный совет по санитарной охране территорий государств-участников СНГ от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней, являющейся рабочим органом Совета по сотрудничеству в области здравоохранения государств-участников СНГ.

В 2005 г. в связи с изменением структуры органов исполнительной власти и, соответственно, ведомственной принадлежности учреждений Научного совета (50.00) приказом Роспотребнадзора и РАМН в целях совершенствования организационного, научно-методического и практического обеспечения мероприятий по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации Научный совет был преобразован в Координационный научный совет по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации Роспотребнадзора и РАМН.

Разработаны новые принципы и концепция санитарной охраны территорий, адаптированные к современным эпидемиологическим, социально-экономическим и геополитическим реалиям, которые нашли отражение в формировании алгоритма предупреждения, раннего выявления и целенаправленной ликвидации чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения (опасные инфекционные болезни, санитарно-гигиенические, экологические опасности) на международном (страны-члены ВОЗ), межгосударственном (СНГ) уровнях и на территории Российской Федерации. Данные разработки практически закреплены соответственно в Международных медико-санитарных правилах (2005 г.), Санитарно-эпидемиологических правилах «Санитарная охрана территорий государств-участников СНГ» (2005 г.), Санитарно-эпидемиологических правилах «Санитарная охрана территории Российской Федерации» (2008 г.).

В рамках реализации решений Санкт-Петербургского саммита «Группы восьми» (2006 г.) в области борьбы с инфекционными болезнями разрабатывается современная технология оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения с участием модернизированных специализированных противэпидемических бригад (СПЭБ).

В 1998 г. во исполнение приказа Минздрава России на базе Российского НИПЧИ «Микроб» был организован Центр по генной диагностике особо

опасных инфекционных болезней. Центром проводится работа по совершенствованию нормативной базы по генной диагностике инфекционных болезней, созданию и внедрению препаратов для генной диагностики особо опасных инфекций, координационно-консультативная и учебно-методическая, оперативная и диагностическая работа. Разработаны и внедрены в практику здравоохранения ПЦР тест-системы для выявления возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, в том числе, с учетом результатов в режиме реального времени, бруцеллеза. Ведутся работы по созданию тест-систем нового поколения для выявления возбудителей холеры, бруцеллеза, легионеллеза методом полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени; мультиплексные тест-системы для выявления и характеристики возбудителей чумы, туляремии, сибирской язвы, холеры, тест-системы для выявления РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и вируса Западного Нила.

В 2008 г. на базе Центра по генной диагностике был организован Центр индикации возбудителей и диагностики опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора для субъектов Приволжского и Уральского федеральных округов.

В соответствии с Приказом Роспотребнадзора, РосНИПЧИ «Микроб» является региональным центром мониторинга возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности, курирующим 16 субъектов Российской Федерации.

Решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения государств-участников СНГ в 2003 г. на базе РосНИПЧИ «Микроб» создан и функционирует Межгосударственный центр по генной диагностике и современным диагностическим технологиям в области карантинных и других опасных инфекционных болезней.

Совершенствование методов и средств диагностики особо опасных инфекционных болезней связано с разработкой и внедрением в практику тест-систем на основе нанотехнологий и наноматериалов. В институте ведется научно-исследовательская работа по созданию биологических микро- и наночипов, био- и наносенсоров, тест-систем на основе наночастиц коллоидного золота, систем молекулярной диагностики особо опасных инфекций с использованием метода атомно-силовой микроскопии. В рамках проводимых работ институт активно сотрудничает с рядом промышленных предприятий, высших учебных заведений, предприятий малого и среднего бизнеса. С 2006 г. РосНИПЧИ «Микроб» входит в состав Саратовского Центра наноиндустрии. За создание проекта «Разработка биочипов на основе микроструктурного стекла с применением нанотехнологий для детекции возбудителей особо опасных и природно-очаговых инфекций» коллектив авторов на Третьем Саратовском салоне изобретений, инноваций и инвестиций награжден Дипломом 1 степени и Золотой медалью.

Приоритетность и актуальность научных разработок РосНИПЧИ «Микроб» подтверждены более 250 авторскими свидетельствами и патентами на изобретения. Неоднократно за активную изобретательскую деятельность институт награждался почетными грамотами и благодарностями.

За последние годы исследования ориентированы на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в зонах чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера на территории Российской Федерации и государств-участников СНГ.

Впервые в Российской Федерации группой авторов разработана мобильная лаборатория эпидразведки и индикации, которая удостоена диплома первой степени и золотой медали на Втором Саратовском салоне изобретений, инноваций и инвестиций. Мобильная лаборатория прошла успешные испытания в полевых условиях в Ставропольском крае, Калмыкии, Астраханской области. Разработан и запатентован противоэпидемический комплекс мобильных лабораторий различного профиля, содержащий шесть модулей: лабораторию индикации, лабораторию особо опасных инфекций, бактериологическую лабораторию, лабораторию санитарно-гигиенических исследований, блок поддержки бактериологических исследований и штабной модуль.

Сотрудники института имеют гранты Президента Российской Федерации по поддержке ведущих научных школ и молодых ученых. Ряд научно-исследовательских работ в институте выполняется при поддержке грантов РФФИ, а также в рамках Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники».

С 2009 г. планируется проведение исследований в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)», направленных на совершенствование национальной нормативной базы по биологической безопасности, разработку методов и средств индикации, диагностики и профилактики особо опасных болезней.

РосНИПЧИ «Микроб» обеспечивает ведение и поддержание Государственной коллекции патогенных бактерий (создана на базе Всесоюзного музея живых культур, утвержденного Приказом Минздрава СССР № 205/а от 30.04.1955 г.), которая входит в реестр Государственных коллекций Российской Федерации, имеющих право осуществлять депонирование штаммов с целью проведения патентной процедуры. В коллекции хранятся уникальные генетически и молекулярно-биологически охарактеризованные штаммы возбудителей инфекционных болезней, часть из них относится к I и II группам патогенности.

На основе Федеральной лицензии осуществляется послевузовское и дополнительное профессиональное образование специалистов учреждений

Роспотребнадзора и практического здравоохранения. За время существования института «Микроб» на курсах специализации и повышения квалификации по особо опасным инфекциям подготовлено около 12 тысяч специалистов для регионов России и стран СНГ. Подготовка кадров высшей квалификации осуществляется в аспирантуре по шести специальностям (эпидемиология, микробиология, аллергология и иммунология, биохимия, биотехнология, биобезопасность в чрезвычайных ситуациях). Функционируют диссертационные советы ВАК России по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям микробиология и эпидемиология (медицинские и биологические науки).

Институт «Микроб» располагает развитой биотехнологической базой для производства медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП) и питательных сред. На базе института функционирует Республиканский центр по стандартизации и контролю МИБП против особо опасных инфекций. На основе Федеральной государственной лицензии институт выпускает 24 сертифицированных препарата для диагностики и профилактики особо опасных инфекций, которые поставляются во все субъекты Российской Федерации и государства СНГ. Освоено производство тест-систем для генной диагностики возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний и единственное в стране биотехнологическое производство антирабического иммуноглобулина.

На базе РосНИПЧИ «Микроб» регулярно проводятся всероссийские и межгосударственные научные конференции. С 1968 г. издается периодический журнал «Проблемы особо опасных инфекций» (4 выпуска в год), который является единственным в Российской Федерации научно-практическим изданием, специализирующимся на освещении широкого круга вопросов особо опасных инфекционных болезней, а также проблем обеспечения противоэпидемической защиты населения от биологических угроз. Журнал входит в перечень ведущих научных рецензируемых журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций.

В институте создана прекрасная библиотека, которая пополняется каждый год новыми изданиями как русскими, так и зарубежными. Уже к 1924 г. библиотека имела 1500 томов различных изданий (928 наименований). Долгие годы библиотека института «Микроб» была одной из лучших библиотек страны по своему профилю и носила звание «Лучшая библи-

отека РСФСР». Лучшей она была и в противочумной системе. Сейчас библиотека содержит более 100 тысяч наименований книг и журналов.

В настоящее время в институте функционируют лаборатории: эпидемиологии, эпизоотологического мониторинга, биологической безопасности, диагностики инфекционных болезней, молекулярной микробиологии, прикладной генетики, патогенных вибрионов, иммунологии с сектором патологической анатомии, гибридом; отделы биохимии и биофизики, подготовки специалистов, государственная коллекция патогенных бактерий, большой производственный отдел, информационно-аналитический отдел, редакционно-издательский отдел, здравпункт и административно-хозяйственные подразделения.

Коллектив института насчитывает около 600 сотрудников, в том числе 1 член-корреспондент РАМН, 10 профессоров, 18 докторов, 91 кандидат наук, многие из них награждены орденами и медалями, отраслевыми знаками отличия, 16 сотрудников были лауреатами Государственной премии (в том числе: Е.И.Коробкова, Г.Н.Ленская, В.М.Туманский, А.А.Безсонова, Б.К.Фенюк, Н.И.Калабухов, А.В.Попов), 6 – присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки». За разработку и внедрение в медицинскую практику новых средств специфической профилактики, диагностики и лечения сибирской язвы авторскому коллективу ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России» и РосНИПЧИ «Микроб» (В.В.Кутырев, А.Н.Куличенко) присуждена Государственная премия Российской Федерации за 2002 год в области науки и техники. Трое ведущих сотрудников института, занимавшие в разное время должности заместителей директора института, сейчас возглавляют крупные научные центры Роспотребнадзора. Профессор И.Г.Дроздов – генеральный директор ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», профессор И.А.Дятлов – директор ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболensk), профессор А.Н.Куличенко – директор Ставропольского НИПЧИ.

Большой и славный путь прошел Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». За 90 лет он стал одним из крупнейших научных противоэпидемических центров страны, ведущим перспективные научно-исследовательские разработки и активно осуществляющим профилактические и противоэпидемические мероприятия на территориальном, региональном, федеральном и международном уровнях.

К 80-ЛЕТИЮ АЛЕКСЕЯ КОНСТАНТИНОВИЧА АДАМОВА



7 ноября 2008 г. исполнилось 80 лет действительному члену Академии медико-технических наук, члену-корреспонденту Академии технологических наук РФ, профессору, доктору медицинских наук, заслуженному изобретателю РФ Адамову Алексею Константиновичу.

Защита кандидатской, а в 1963 г. докторской диссертации, посвященной проблемам особо опасных инфекций, определила его дальнейший путь в науке. По ходатайству министра здравоохранения Алексея Константиновича направили в Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», где он был назначен на должность заместителя директора по научной работе. В 1968 г. он организовал лабораторию микробиологии и иммунологии холеры, которую возглавлял до 1996 г. Основными направлениями деятельности лаборатории являлись разработка и совершенствование методов лабораторной диагностики холеры, создание новых диагности-

ческих и профилактических препаратов.

Алексей Константинович воспитал целую плеяду талантливых молодых ученых, продолжающих дело его жизни. Под его руководством выполнены и успешно защищены более 20 кандидатских и докторских диссертаций. Опубликовано в отечественных и зарубежных изданиях более 400 научных работ и 19 монографий по медицине и философии. Результаты его исследований докладывались на международных, всесоюзных, российских съездах и конференциях.

Многолетний добросовестный труд Алексея Константиновича отмечены Почетными грамотами МЗ СССР, медалями правительства Советского Союза, государственными наградами – знаком «Отличник здравоохранения» и медалью «Ветеран труда».

Высокий профессионализм, любовь к науке, талант организатора и исследователя, активная жизненная позиция, доброжелательное отношение к людям принесли Алексею Константиновичу заслуженную известность и уважение сотрудников института «Микроб», других учреждений Роспотребнадзора.

Редакционная коллегия журнала, коллектив РосНИПЧИ «Микроб» желают доброго здоровья, долгих лет жизни, дальнейших творческих успехов.

К 60-ЛЕТИЮ ЮРИЯ АЛЕКСЕЕВИЧА ПОПОВА



4 августа 2008 г. исполнилось 60 лет заведующему лабораторией прикладной генетики, доктору биологических наук, профессору Попову Юрию Алексеевичу.

Юрий Алексеевич Попов – крупный ученый в области биологии возбудителей опасных инфекционных болезней.

Основное направление его научной деятельности – структурно-функциональный анализ генетических детерминант возбудителей чумы и сибирской язвы.

Благодаря разработанным под руководством Юрия Алексеевича Попова оригинальным методическим приемам получена существенная информация о структурной и функциональной организации плазмид чумного микроба *Yersinia pestis*. Приемы молекулярного клонирования и генно-инженерного конструирования обеспечили в конце 80-х, начале 90-х гг. создание нового класса диагностических средств – ДНК-зондов, что явилось одним из оснований начала развития генодиагностики возбудителей особо опасных инфекционных болезней. Приоритетность и

актуальность проведенных разработок подтверждена авторскими свидетельствами на изобретения.

Юрий Алексеевич Попов является автором около 250 научных работ, опубликованных в отечественных и зарубежных изданиях. С его участием разработано 4 нормативно-методических документа, утвержденных по федеральному уровню внедрения, депонировано 75 авторских генетически маркированных штаммов микроорганизмов. Получено 15 авторских свидетельств СССР и патентов Российской Федерации на изобретения. Результаты научных разработок Ю.А.Попова неоднократно были представлены на всесоюзных и российских конференциях, а также на международных симпозиумах. Под его руководством выполнены 15 кандидатских диссертаций.

За успехи, достигнутые в научной и практической деятельности Юрий Алексеевич Попов награжден медалью «За трудовое отличие», Почетными грамотами, нагрудным знаком «Изобретатель СССР» и Почетными грамотами Саратовского областного совета Всероссийского общества изобретателей и рационализаторов.

Редакционная коллегия журнала, коллектив РосНИПЧИ «Микроб» желают Юрию Алексеевичу Попову доброго здоровья, долгих лет жизни и дальнейших творческих успехов.

К 80-ЛЕТИЮ МИХАИЛА СТЕПАНОВИЧА ВЕРЕНКОВА



Старшему научному сотруднику, кандидату медицинских наук Веренкову Михаилу Степановичу исполнилось 80 лет.

Вся научная и практическая деятельность Михаила Степановича связана с институтом «Микроб», куда сразу после окончания Саратовского государственного медицинского института был направлен

на работу в лабораторию по производству сывороток. Экспериментальные исследования по антигенной структуре чумного микроба легли в основу кандидатской диссертации, которую М.С.Веренков успешно защитил в 1970 г. Практическим выходом кандидатской диссертации явился новый диагностический препарат – иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие чумные адсорбированные лошадиные сухие, с помощью которого стала возможна индикация и идентификация чумного микроба в первые часы лабораторного анализа. В серийное производство препарат был запущен в 1971 г. приказом МЗ СССР.

По инициативе Михаила Степановича и при его непосредственном участии были разработаны и внедрены в лабораторную практику флуоресцирующие

иммуноглобулины для идентификации возбудителя псевдотуберкулеза, а также иммуноглобулины для индикации чумного и псевдотуберкулезного микробов в реакции агглютинации. Серийный выпуск всех перечисленных препаратов осуществляется и в настоящее время.

М.С.Веренков неоднократно являлся участником ВДНХ СССР, представляя там разработанные препараты. В 1970 г. Главным комитетом выставки Михаил Степанович был награжден бронзовой медалью. За разработку новых диагностических препаратов и за успехи в труде награжден знаком «Отличник здравоохранения», а за разработку способа получения мышинного токсина чумного микроба – знаком «Изобретатель СССР»

М.С.Веренков является автором 160 научных работ, 4 изобретений, 42 рационализаторских предложений, 40 нормативных и инструктивно-методических документов.

Своим доброжелательным отношением к коллегам, трудолюбием, высоким профессионализмом Михаил Степанович снискал уважение сотрудников института «Микроб», противочумных и других учреждений здравоохранения.

Редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» и коллектив РосНИПЧИ «Микроб» желают Михаилу Степановичу доброго здоровья и долгих лет творческой жизни.

К 90-ЛЕТИЮ НАТАЛЬИ ФЕДОРОВНЫ ДАРСКОЙ

Известному ученому, талантливому энтомологу и экологу Н.Ф.Дарской исполнилось 90 лет.

Свою научную жизнь она посвятила изучению блох – переносчиков особо опасных инфекций.

После окончания биологического факультета Московского государственного университета в 1940 г. работала в Клязьминском заповеднике, затем паразитологом на противочумной станции в Чите. В 1946 г. Наталью Федоровну переводят работать на Ставропольскую противочумную станцию, где она занимается систематикой блох, но основным направлением становится экология.

После окончания аспирантуры при Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи АМН СССР успешно защищает кандидатскую диссертацию.

В трудах Н.Ф.Дарской освещены вопросы географического, стациального и сезонного распределения переносчиков, их образ жизни, являющиеся необходимыми для выяснения роли эктопаразитов в существовании природных очагов. Н.Ф.Дарская продолжила начатое И.Г.Иоффом изучение годовых циклов блох. Особое внимание уделяла разработке

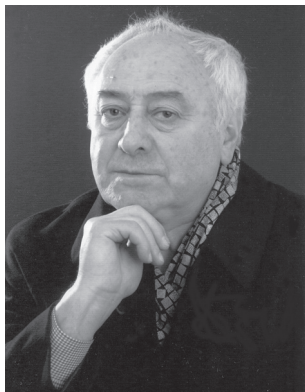
методов определения физиологического возраста блох, их использованию для оценки изменений состава популяции ряда видов в разных географических условиях.

Научные разработки Н.Ф.Дарской широко известны в России и за рубежом. Круг научных интересов Натальи Федоровны не ограничен экологическими вопросами. Заметен ее вклад в проблемы систематики, включая описание новых видов, интерпретацию распространения блох и географической изменчивости морфологических признаков, заботу о сохранении и пополнении коллекционного фонда.

Неотъемлемые черты Н.Ф.Дарской – любовь к своему делу, стремление делиться знаниями с учениками и коллегами, требовательность к себе и другим, отзывчивость. И сегодня она интересуется ходом развития отрасли науки, которой отдала многие годы, беспокоится о сохранении ценной информации, накопленной несколькими поколениями исследователей.

Редакционная коллегия журнала, коллектив Ставропольского научно-исследовательского противочумного института желает Наталье Федоровне здоровья и бодрости духа.

ПАМЯТИ САРКИЗА МКРТЫЧЕВИЧА ДАЛЬВАДЯНЦА (1935–2008)



На 73-м году жизни после тяжелой продолжительной болезни скончался доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Саркис Мкртычевич Дальвадянец.

Вся научная, педагогическая и практическая деятельность Саркиса Мкртычевича связана с институтом «Микроб», где он прошел путь от аспиранта

до ведущего научного сотрудника.

В 1969 г. защитил кандидатскую диссертацию, а в 1991 г. – докторскую.

Профессиональному росту С.М.Дальвадянца способствовали такие личные качества, как целеустремленность, работоспособность, широта интересов, организаторские способности, умение планировать и выполнять научные исследования, воплощать результаты в практику здравоохранения.

С.М.Дальвадянец – крупный ученый в области прикладной микробиологии и иммунологии. Он впервые выделил «основной» соматический антиген, определяющий перекрестные иммунологические реакции между возбудителями чумы и псевдотуберкулеза. Результаты этих исследований дали основание совместно с академиком И.В.Домарадским рекомендовать использовать живую чумную вакцину в качестве иммунопрофилактического препарата при псевдотуберкулезе.

Под руководством и при участии С.М.Дальвадянца разработана и широко испытана в экспериментальных и клинических условиях первая в мире чумная химическая вакцина, главным достоинством которой является высокого уровня ревакцинирую-

щий эффект с быстрым подъемом резистентности к возбудителю чумы и возможность одновременного применения со средствами общей экстренной профилактики.

Саркис Мкртычевич имел огромный опыт работы в природных очагах чумы Кавказа и Закавказья, Северо-Западного Прикаспия, Волго-Уральского и Волго-Эмбенского междуречья. Он многократно участвовал в ликвидации вспышек особо опасных инфекционных болезней на территории Российской Федерации и республик бывшего СССР. Оказывал консультативно-методическую помощь по вопросам профилактики и диагностики ООИ противочумным станциям и органам здравоохранения.

С.М.Дальвадянец является автором более 170 научных работ, 5 изобретений, 15 рационализаторских предложений и более 20 нормативно-технических документов. Под его руководством защищены 2 кандидатские диссертации.

За трудовые и научные достижения С.М.Дальвадянец награжден медалью «За долголетний и добросовестный труд», Почетной грамотой Губернатора Саратовской области, ему присвоено звание «Отличник здравоохранения России».

Высокая квалификация исследователя, профессионализм, творческая работоспособность, принципиальность, уважительное отношение к коллегам по работе принесли Саркизу Мкртычевичу заслуженную известность среди ученых противочумных и других учреждений здравоохранения.

Свыше сорока лет Саркис Мкртычевич отдал институту «Микроб», был его истинным патриотом, настоящим товарищем для своих коллег, наставником молодежи.

Сотрудники института скорбят о кончине Саркиса Мкртычевича Дальвадянца, светлая и благодарная память о нем будет долго жить в наших сердцах.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

При направлении статьи в редакцию следует соблюдать следующие правила:

1. Присылать один распечатанный экземпляр статьи и электронную копию на компакт-диске, дискете или по электронной почте. **Каждая статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена, экспертное заключение и лицензионный договор о предоставлении права использования произведения** (договор размещен на сайте РосНИПЧИ «Микроб» <http://www.microbe.ru>).

2. Размер статей (включая таблицы, резюме и список литературы) не должен превышать у оригинальных – 8 стр., обзоров – 12–14 стр., кратких сообщений – 4–5 стр.

3. К оригинальным, проблемным статьям, обзорам и кратким сообщениям должны прилагаться резюме (не более 10 строк) и ключевые слова.

4. В начале статьи указываются: инициалы и фамилия авторов, название работы, *названия учреждений – мест работы всех авторов, их должности и контактная информация (почтовый адрес с указанием индекса, телефон, адрес электронной почты)*. Статья должна быть подписана всеми авторами.

5. Количество иллюстраций не должно превышать 3 (либо 3 рис., либо 3 табл., либо 3 в совокупности).

6. Месторасположение таблиц и рисунков в тексте отмечать ссылками на полях (только в распечатанных экземплярах).

7. Таблицы не должны дублировать графики, должны иметь краткое название, быть компактными, с «шапками», точно отражающими содержание граф. Числа в таблицах должны быть статистически обработаны и соответствовать таковым в тексте.

8. Рисунки должны быть четкими. *В случае необходимости каких-либо обозначений они должны быть сделаны на втором экземпляре рисунка или фотографии*. Количество обозначений должно быть сведено к минимуму. Все объяснения следует давать в подрисуночной подписи.

9. Родовые и видовые названия микроорганизмов, инфраподвидовые категории, наименования семейств должны соответствовать принятым Международным таксономическим комитетом (9 изд. «Руководство по систематике бактерий Берги»). Первый раз название бактерий пишется полностью (*Shigella flexneri*), далее род – только одной прописной буквой, вид – полностью со строчной (*S. flexneri*). Наименования семейств пишутся полностью.

10. Сокращение слов, имен, названий (кроме общепринятых сокращений, мер физических и математических величин и терминов) допускается только с первоначальным указанием полного названия.

11. Математические формулы должны быть тщательно выверены. Во всех формулах необходимо размечать (только в распечатанных экземплярах):

строчные и прописные буквы: прописные обозначаются двумя черточками снизу, строчные – двумя черточками сверху;

латинские и греческие буквы: латинские подчеркиваются синим цветом, греческие – красным.

12. Литература (в оригинальных статьях – не более 15 источников, проблемных и обзоров – не более 50, кратких

сообщениях – не более 5–8) печатается в алфавитном порядке (сначала русские авторы, потом – иностранные). В тексте дается ссылка на порядковый номер списка (в квадратных скобках), а не на фамилию и годы. Фамилии иностранных авторов в тексте даются в иностранной транскрипции.

В списке литературы приводятся авторы работы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стилем, принятом в Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>). Для книг, диссертаций и патентов давать точное название. В ссылках на статьи, принятые в печать, но еще не опубликованные, нужно указать «(в печати)». При этом авторы должны получить письменное разрешение на упоминание таких статей и подтверждение, что они действительно приняты к публикации. Информация из рукописей, представленных, но еще не принятых в печать, должна обозначаться в тексте как «(неопубликованные наблюдения)» (обязательно наличие согласия автора). Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Например, *статьи в журналах*:

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N. Engl. J. Med. 2002; 347:284-7.

Если в статье более 6 авторов, перечислите первых 6 авторов и добавьте «и др. (*et al.*)»

Книги и другие монографии

Физические лица в качестве авторов:

Martin E.W. Hazards of medication. 2nd ed. Ruskin A., Napke E., Alexander S., Kelsey F.O., Farage D.J., Mills D.H., Elkas R.W., editors. Philadelphia: Lippincott; 1978. 686 p.

Редакторы, составители в качестве авторов:

Celli L., editor. The elbow: traumatic lesions. Warr A., translator. Vienna (Austria): Springer-Verlag; 1991. 203 p.

13. Требования к электронным вариантам статей: файлы с текстом и подрисуночными подписями должны быть в формате DOC (редактор Microsoft Word) или RTF; **рисунки и фотографии – в отдельных файлах в формате TIFF (разрешение – 300 dpi); диаграммы и графики должны быть выполнены в программе Excel (в отдельных файлах в формате XLS)**. Рисунки, фотографии, диаграммы и графики не вставлять в текст в программе Microsoft Word.

14. При невыполнении настоящих правил статьи не принимаются и отсылаются авторам на дооформление.

15. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи, сокращать или исправлять, а также публиковать их в виде кратких сообщений (4–5 стр. текста с резюме и литературой без рисунков и таблиц). Вся работа проводится по авторскому оригиналу.

16. В случае отклонения статьи по рецензии редакция направляет автору мотивированный отказ.

17. Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:

410005, Саратов, Университетская, 46, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12. E-mail: microbe@san.ru