

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека**

Совет молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

**Материалы
VI Всероссийской научно-практической конференции
молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора
22 - 24 октября 2014 г.**

Под редакцией профессора А. Н. Куличенко

Ставрополь, 2014

УДК 616-036.22+616-084:614.4

ББК 51.9+51.1(92)

А 43

Редакционная коллегия:

Д. А. Будыка, Н. Ф. Василенко, И. В. Даренко,
Е. Б. Жилченко, А. А. Зайцев, С. М. Кальной, Б. К. Котти, Г. И. Лямкин,
Е. Л. Ракитина, В. Н. Савельев, Ю. М. Тохов, И. С. Тюменцева, О. И. Цыганкова

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ:
Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора / Под ред. профессора А. Н. Куличенко. Ставрополь: Издательство ООО «Экспо-Медиа», 2014. - 188 с.

ISBN 978-5-9905922-3-0

В сборнике представлены материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины».

В материалах конференции освещены актуальные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации, применения информационных технологий и систем в эпидемиологии инфекционных болезней.

Представлены теоретические и практические аспекты создания новых биотехнологий производства препаратов для лабораторной диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней. Отражены вопросы разработки и применения современных методов и алгоритмов лабораторной диагностики инфекций и индикации их возбудителей.

В сборник включены работы, посвященные анализу и медико-профилактическим технологиям управления рисками здоровья населения при воздействии факторов окружающей и производственной среды. Рассмотрены проблемы обеспечения безопасности объектов окружающей среды, пищевых продуктов и наноматериалов.

Материалы предназначены для научных сотрудников, специалистов органов и организаций Роспотребнадзора, студентов и аспирантов медицинских и биологических специальностей, специалистов смежных отраслей науки, решающих задачи обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

УДК 616-036.22+084:614.4

ББК 51.9+51.1(92)

ISBN 978-5-9905922-3-0

© ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, 2014



Обращение
Руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
А.Ю. Поповой
к участникам VI Всероссийской
научно-практической конференции
молодых ученых и специалистов
Роспотребнадзора
«Актуальные проблемы эпидемиологии
и профилактической медицины»

Уважаемые коллеги!

Стало хорошей традицией ежегодно проводить Всероссийскую научно-практическую конференцию молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора – будущего Службы.

Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины» – отличная возможность для определения перспективных направлений актуальных научных исследований, для развития творческой активности и интеллектуального потенциала молодых ученых и специалистов.

Происходящие в последние годы в Российской Федерации масштабные социально-экономические изменения позволили добиться определенных успехов в области борьбы с инфекционными болезнями, улучшения санитарно-гигиенической обстановки. Сегодня разработки и активное внедрение в практику новых технологий позволяют решать задачи, направленные на оптимизацию эпидемиологического надзора, совершенствование лабораторной диагностики, защиту населения от патогенных биологических агентов, вредных факторов окружающей среды.

Вместе с тем, для достижения глобальной стратегической цели сохранения здоровья нации требуется успешное решение целого ряда вопросов, в числе которых: оценка риска здоровью населения, обеспечение безопасности продукции с включенными наноматериалами и ГМО; внедрение современных методов анализа генома и протеома микроорганизмов в практику лабораторного анализа; развитие новых биотехнологий производства препаратов для лабораторной диагностики и профилактики инфекционных болезней, внедрение информационных технологий в практику эпидемиологического и санитарно-гигиенического мониторингов; создание новых качественных средств диагностики, лечения и профилактики отечественного производства.

В настоящее время тенденции современной науки таковы, что возникает необходимость сочетания качественной специализации ученого в профильной области со знаниями смежных научных направлений, широты мышления. Считаю, что при решении научных и практических задач следует отдавать предпочтение комплексному подходу, так как именно на стыке нескольких научных дисциплин и специальностей рождаются новые знания.

Желаю всем участникам и гостям конференции успехов, новых научных достижений, плодотворной работы и выражаю уверенность в том, что работа конференции внесет существенный вклад в дело сохранения и укрепления здоровья населения России и повышения благополучия нашей страны.

Председатель оргкомитета,
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
д.м.н., профессор

А.Ю. Попова

I. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА

УДК 576.895.775(470.62./67)

Артюшина Ю. С.

БЛОХИ РОДА *STENOPHTHALMUS* НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Блохи рода *Stenopthalmus* являются одной из наиболее многочисленных по видовому составу группой в отряде Siphonaptera, которая паразитирует на грызунах и насекомоядных.

К настоящему времени в мировой фауне известно более 150 видов рода *Stenopthalmus*. На Северном Кавказе обнаружены представители пяти родов, включающих 19 видов, некоторые из них представлены несколькими подвидами.

Подрод *Medioctenophthalmus* Hopkins et Rothschild, 1966: *C. golovi golovi* Ioff et Tiflov, 1930; *C. g. alpestris* Argyropulo, 1935; *C. kirschenblatti dombaicus* Rostigayev, 1967; *C. chionomydis* Ioff et Rostigayev, 1950; *C. bifurcus* Ioff, 1940.

Подрод *Euctenophthalmus* Wagner, 1940: *C. orientalis* Wagner, 1898; *C. congener secundus* Wagner, 1916; *C. wagneri wagneri* Tiflov, 1927; *C. s. schuriscus* Ioff, 1940; *C. schuriscus hypanis* Ioff, 1950; *C. s. riciensis* Ioff, 1953; *C. intermedius* Argyropulo, 1935; *C. parvus* Argyropulo, 1935; *C. pollex* Wagner et Ioff, 1926; *C. bogatschevi* Wagner et Argyropulo, 1934; *C. dagestanicus* Rostigayev, 1967.

Подрод *Stenopthalmus* Kolenati, 1856: *C. proximus* Wagner, 1903.

Подрод *Palaeoctenophthalmus* Wagner, 1940: *C. rettigi* Rothschild, 1908; *C. acuminatus* Ioff et Argyropulo, 1934; *C. inornatus* Wagner, 1916.

Подрод *Spalacoctenophthalmus* Wagner, 1940: *C. spalacis* Jordan et Rothschild, 1911; *C. gigantospalacis* Ioff, 1929.

По степени привязанности к микробиотопу имаго *Stenopthalmus* являются типичными представителями «блох гнезда» (Иофф И. Г., 1941; Тифлов В. Е., с соавт., 1977). Такие виды, как *St. spalacis*, *St. gigantospalacis*, *C. rettigi*, проявляют строгую специфичность к слепышу, гигантскому слепышу, хомяку Реттиги (соответственно); *St. s. secundus*, *St. proximus* приурочены к строго определенным ландшафтам, а виды *St. orientalis*, *St. intermedius* являются более пластичными, паразитируют на различных видах грызунов и встречаются от пустыни до высокогорий.

Блохи рода *Stenopthalmus* широко распространены по всей территории Северного Кавказа, где

заселяют практически все ландшафты, от степей и полупустынь на востоке и субтропиков на западе до субальпийских и альпийских лугов Большого Кавказа, в том числе на территории природных очагов этого района.

Отдельные представители рода *Stenopthalmus*, паразитирующие на основных носителях чумы в природных очагах – сусликах (малом и горном) и полевках (*C. golovi golovi*, *C. g. alpestris*, *C. orientalis*, *C. pollex*, *C. intermedius* и др.), являются массовыми паразитами и часто обнаруживаются зараженными. Некоторые представители этого рода (*C. pollex*, *C. intermedius*) в экспериментах оказались способными к передаче возбудителя чумы, а единичные *C. pollex* к блокообразованию (Герасимова Н. Г., с соавт., 1979; Дегтярева Л. В., с соавт., 1990, 1991).

Таким образом, бактериологические исследования блох рода *Stenopthalmus*, собранных при эпизоотологическом обследовании энзоотических по чуме территорий, позволяют выявлять наличие чумной инфекции на том или ином участке.

УДК 576.8:59

Бобенко О. А.¹, Цапко Н. В.¹,
Товпинец Н. Н.², Евстафьев И. Л.²,
Шапошникова Л. И.¹, Агапитов Д. С.¹

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЗАПАДНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2014 Г.

¹ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

²Крымская республиканская санитарно-эпидемиологическая станция, Симферополь

Известно, что территория Крыма эндемична по ряду природно-очаговых бактериальных и вирусных инфекций: туляремии, лептоспирозов, кишечного иерсинеоза, псевдотуберкулеза, геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ), клещевого энцефалита, клещевого боррелиоза (Болезнь Лайма), Q-лихорадки, Марсельской лихорадки, бешенства (Товпинец Н. Н., Евстафьев И. Л., 2003).

Материал собран во время эпизоотологического обследования группой сотрудников Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, а также биологами отдела ООИ Крымской Респ. СЭС на территории Республики Крым в Сакском, Черноморском, Ленинском районах и Феодосийском горсовете в летний период 2014 г. (май-июнь).

Для учета численности и изучения видового состава мелких млекопитающих было выставлено 1294 малых ловушек «Геро». Отловлено 78 мелких млекопитающих, представленных 5-ю видами: общественная полевка (*Microtus socialis*) – 20, степная мышь (*Sylvaemus wetherbi*) – 19, серый хомячок (*Cricetulus migratorius*) – 2, домовая мышь (*Mus musculus*) – 35, курганчиковая мышь (*Muspicilegus*) – 2.

Доминирующим видом среди мелких млекопитающих, отловленных в открытых биотопах, является домовая мышь. Индекс доминирования этого зверька составил в целом по всем биотопам 44,9 %, средние показатели относительной численности – 2,70 % попадания на 100 л/н. На долю общественной полевки и степной мыши приходится 25,6 % и 24,3 %, соответственно при относительной численности в 1,54 % и 1,46 % попадания на 100 л/н.

Наиболее низкие показатели доминирования – у серого хомячка и курганчиковой мыши по 2,6 % при 0,15 % попадания на 100 л/н соответственно.

Из трех обследованных нами районов Крыма в Черноморском районе отмечен наиболее высокий процент попадания – 9,03 %, тогда как в Феодосийском горсовете и Сакском районе процент попадания приблизительно одинаков – 5,88 и 4,65 % соответственно.

Исследования проводились в трех видах биотопов (неудобья, лесополоса и целина). Процент попадания мелких млекопитающих в орудия лова в неудобьях составил – 7,82 %, в лесополосах – 6,23 % и самый низкий на целине – 2,35 %.

Наивысшие показатели доминирования (71,0 %) отмечены у домовой мыши в лесополосах, тогда как в неудобьях абсолютно доминировала общественная полевка; ее доля в данной группе биотопов составила 41,6 %.

Субдоминантом в неудобьях зарегистрирована степная мышь, ее индекс доминирования составил – 27,8 %, при 2,2 % попадания на 100 л/н, а в лесополосах доля общественной полевки и степной мыши находится в равном соотношении – 13,1 %, при одинаковых показателях относительной численности – 0,8 % попадания на 100 л/н.

Согласно данным биологов СЭС Республики Крым, средние показатели численности к началу весны 2012 г. в большинстве ландшафтных зон Крыма снизились до уровня 5–7 % попадания, а местами в степном Крыму упали до 1–3% попадания, что ниже или близко к их средним многолетним показателям.

Таким образом, согласно нашим данным, полученным в 2014 г., в период размножения числен-

ность большинства видов мелких млекопитающих на территории Крыма не превысила 6,02 % попадания, т. е. близка к их средним многолетним показателям.

Анализ половой структуры мелких млекопитающих в обследованных районах показал, что численность самок в 1,8 раза выше численности самцов. Размножающиеся самки составили 74 % из числа всех отловленных особей данного пола среди доминирующих видов грызунов, что говорит о периоде наиболее активного размножения. Из 50 исследованных самок беременных было 17 экз. (34,0 %), рожавших (с плацентарными пятнами: п. п.) – 20 экз. (40 %). Известно, что самки с плацентарными пятнами встречаются практически круглый год, но наиболее высокие показатели приходится на лето и осень. Определенная часть самок (20 %) участвует в размножении повторно.

Молодые зверьки (*juvenis*) в сборах обнаружены однажды, доля полувзрослых зверьков (*subadultus*) составила 21,8 %, тогда как доля взрослых зверьков (*adultus*) равна 77,0 %.

Имеющиеся весенне-летние данные по размножению грызунов в 2014 г. не позволяют достоверно прогнозировать изменение их численности к осени этого года, но долгосрочный прогноз погодных условий на летний период 2014 г. дает основание говорить о вполне благоприятных условиях существования большинства видов мелких млекопитающих. В связи с этим можно предполагать обычные уровни размножения, а значит, и обычные уровни нарастания численности – в 1,5–2 раза, т. е. фактические показатели численности грызунов к началу осени 2014 г. могут достичь 9–12 % на 100 л/н.

От добытых грызунов был взяты суспензии органов печени, легкого и головного мозга – всего 228 проб. Эти пробы были исследованы методом ПЦР на наличие антигенов вирусов ЛЗН, ККГЛ, ГЛПС, КЭ, и во всех пробах антигены этих вирусов не обнаружены. На наличие возбудителя туляремии исследовано 76 суспензий селезенки грызунов, ДНК возбудителя туляремии не обнаружено.

При исследовании на лептоспирозы методом РМА из 76 смывов с грудной полости от мелких млекопитающих положительными оказались две пробы (*L.grippothyphosa++*) от полевок общественных в Феодосийском горсовете (окрестности с. Наниково).

Для уверенного прогнозирования эпизоотологической обстановки по природно-очаговым инфекциям результатов однократного эпизоотологического обследования недостаточно.

УДК: 616.2+159.922.7: 614.81]-053.2(571.620-25)"2013/2014"

**Бутакова Л. В., Бондаренко А. П.,
Троценко О. Е., Корита Т. В.**

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ
НОСИТЕЛЬСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ
ПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ
Г. ХАБАРОВСКА В 2013-2014 ГГ.**

*ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии
и микробиологии Роспотребнадзора,
Хабаровск*

Пневмококковая инфекция признается ВОЗ ведущей этиологической причиной заболеваемости и смертности среди детей. Новорожденные дети получают от матери антитела ко многим типам пневмококка. Однако по мере снижения уровня материнских антител заболеваемость повышается взрывообразно – со второго полугодия жизни. В дальнейшем до трехлетнего возраста уровень антител к *S. pneumoniae* растет, достигая показателя взрослых только в школьном возрасте. Это делает группу детей раннего возраста особо восприимчивыми к пневмококковой инфекции. Дети организованных коллективов, где интенсивные контакты поддерживают высокий уровень циркуляции пневмококка, также входят в группы риска.

Пневмококк считается обычным обитателем оболочек верхних дыхательных путей человека. Его колонизация сдерживается факторами защиты местного иммунитета. Именно носители пневмококка являются резервуаром инфекции и способствуют распространению пневмококков в окружающем коллективе и обществе в целом.

В 2013 г. население г. Хабаровска находилось в зоне действия стрессовых нагрузок, связанных с подтоплением территории Хабаровского края. С учетом этих обстоятельств определена цель исследования.

Цель исследования:

Дать сравнительную характеристику носоглоточного носительства основных бактериальных патогенов у детей, относящихся к группам риска, перенесших и не перенесших длительную стрессовую ситуацию в период паводка в августе–октябре 2013 года.

Материалы и методы:

В результате рандомизации сформированы для обследования три группы детей в возрасте от 3 до 6 лет.

К первой группе (80 человек) отнесены часто болеющие дети (ЧБД), посещающие и не посещающие детские учреждения, обратившиеся в диагностические центры в связи с обострением заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП) в 2013 году до стрессовой ситуации.

Ко второй группе (80 человек) отнесены ЧБД, обследованные в 2014 году после стрессовой ситуации.

К третьей группе отнесены дети из трех детских коллективов (60 человек), обследованные в связи с предстоящей вакцинацией против пневмококковой инфекции в 2014 году.

Всего обследовано 320 детей в сезон обострения заболеваний ВДП – в феврале–марте 2013 и 2014 гг.

Материалом для исследования явились мазки с задней стенки глотки и миндалин, а также из носа, взятые при глубоком введении стерильных тампонов в носовые ходы.

Посев материала проводили тампоном на комплект питательных сред (кровяной агар – КА, желточно-солевой агар – ЖСА, среду Эндо, среду Сабуро, сахарный бульон), позволяющих выделить основные патогены.

Выросшие микроорганизмы идентифицировали общепринятыми методами.

Результаты и обсуждение:

При обследовании детей первой и второй групп патогенная микрофлора выявлена у 80 % детей, обследованных в 2013 году, и у 91,2 %, обследованных в 2014 г. Обе группы ЧБД близки по уровню выделения основных патогенов. Так, пневмококк выделен у 40 % детей в 2013 г. и у 41,2 % детей в 2014 г.

Золотистый стафилококк выявлен у 55 % детей, обследованных в 2013 году, и у 60 % – в 2014 г.

Гемофильная палочка обнаружена у 8,8 % детей, обследованных в 2013 году, и у 11,2 % – в 2014 году.

Определяемые показатели несколько выше в 2014 году по сравнению с 2013 годом. Намечается тенденция увеличения выделения патогенов у детей старшей возрастной группы, что свидетельствует о возможном снижении резистентности детей старшей возрастной группы, перенесших стрессовые нагрузки.

Можно также предположить увеличение циркуляции пневмококков с повышенным патогенным потенциалом. Об этом косвенно свидетельствует увеличение уровня выделения пневмококков в моноинфекции – с 17,5 % в 2013 г. до 20,0 % в 2014 году.

При обследовании третьей группы (дети организованных коллективов) патогенная флора была выявлена у 49 из 60 обследованных детей, то есть у 81,7 %.

Пневмококк выделен более чем у половины детей – у 32-х из 60 обследованных детей (53,3 %), в том числе у 11 человек (18,3 %) в моноинфекциях и у 21 ребенка (35,0 %) в сочетании с другими патогенами, а именно, с золотистым стафилококком (20,0 %), гемофильной палочкой (11,7 %), у 2-х детей (3,3 %) выделены одновременно три патогена.

Золотистый стафилококк выделен у половины детей (30 человек – 50 %), в том числе в монокультуре у 15 детей (25,0 %), а также в сочетании с другими патогенами у 15 детей (25,0 %) – пневмококком, гемофилами.

Третье ранговое место по частоте выделения

занимает гемофильная палочка, выявленная у 11 детей (18,4 %), в том числе в монокультуре у 1 ребенка (1,7 %), но чаще – в сочетании с другими патогенами.

При анализе материала с учетом возраста обследуемых детей следует, что в младшей возрастной группе (до 3 лет) реже выявлен отрицательный результат исследования – 12,5 % против 19,2 % в старшей группе (4–6 лет). Чаще выявляются пневмококк (62,5 % против 51,9 % в группе детей 4–6 лет) и гемофильная палочка (75 % против 9,5 %). Напротив, золотистый стафилококк выявляется реже (23,0 % против 53,9 %).

Таким образом, микрофлора носоглотки детей организованных коллективов отличается прежде всего высоким уровнем выделения пневмококка (53,3 % против 41,2 % у ЧБД), который выявлен в значительном количестве не только в младшей возрастной группе, но и у старших детей, что является прямым показанием к проведению вакцинации против пневмококковой инфекции.

Дополнительно был проведен сравнительный анализ помесечной активности циркуляции пневмококка в течение первого полугодия (с января по июнь) в 2013 и 2014 гг. по материалам обследования детей различных возрастных групп.

В первом полугодии 2013 года были выделены 188 штаммов пневмококка, в 2014 году – 208 штаммов, в том числе от детей младшей возрастной группы (0–3 года) 119 и 120 штаммов в 2013 и 2014 гг. соответственно, от детей средней возрастной группы (4–6 лет) 49 и 71 штамм, от детей старшей возрастной группы (7–14 лет) 20 и 17 штаммов соответственно.

Для детей младшей возрастной группы максимальные уровни выделения пневмококка в 2013 году отмечены в январе и феврале – 27,7–30,2 % среди всех случаев, относящихся к первому полугодю.

В 2014 году наиболее высокая активность выделения пневмококка была отмечена в феврале (25,8 %), но также высокий уровень выделения пневмококка наблюдали в мае (21,7 %) и июне (16,1 %).

Для средней возрастной группы максимум случаев выделения пневмококка и в 2013 г., и в 2014 г. отмечен в феврале (22,5 % и 47,9 %). Однако активность выделения пневмококка в мае и июне была также высокой и в 2013 г. (26,5 % и 22,5%), и 2014 году (14,1 % и 16,9 %).

Для детей старшей возрастной группы максимум случаев выделения пневмококка в 2013 г. отмечен в феврале и апреле (по 25 % случаев). В 2014 году максимальные уровни выделения отмечены в мае и июне (по 29,4 %).

Приведенные материалы позволяют высказать суждение о сглаживании зимней сезонности выделения пневмококка и высокой активности циркуляции пневмококка в весенне-летние месяцы, что более выражено при обследовании детей младшей и старшей возрастных групп.

Таким образом, проведенные исследования выявили высокий уровень выделения основных патогенов (пневмококков, стафилококков, гемофилов) в группах ЧБД с тенденцией увеличения уровня выделения каждого из патогенов у детей, обследованных в 2014 году, но подвергшихся стрессовой нагрузке в августе–октябре 2013 года, в том числе и у детей старшей возрастной группы.

Дети организованных коллективов характеризуются более высоким по сравнению с ЧБД уровнем носительства основных бактериальных возбудителей воспалительных заболеваний дыхательных путей.

Приведенные материалы обосновывают необходимость и своевременность вакцинации против пневмококковой инфекции у детей групп риска.

УДК 616.932(470.63)

**Васильева О. В., Савельев В. Н.,
Дубянский В. М., Куличенко А. Н.**

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ НА ПРИМЕРЕ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Эпидемическая обстановка по холере представляет серьезную проблему для мирового здравоохранения. Это связано с крупными эпидемиями и вспышками холеры на эндемичных территориях, заносами инфекции практически на все континенты и тенденцией роста мировой заболеваемости. С начала 2014 г. холера зарегистрирована в 20 странах. Общее количество больных превысило 39 тысяч человек.

Существует необходимость в совершенствовании системы предупреждения эпидемий и разработке подходов, обеспечивающих принятие своевременных мер по предотвращению инфекции. Как следствие, возникает необходимость в сборе и анализе данных, позволяющих выявить районы высокого риска для осуществления в них превентивных мер.

Цель настоящей работы – провести анализ риска заноса и распространения холеры на административных территориях Ставропольского края на основании оценки миграционной активности населения, санитарно-гигиенических и природно-климатических факторов для совершенствования эпидемиологического надзора.

В качестве объектов исследования взяты 10 городов краевого значения и 26 районов соглас-

но административно-территориальному делению Ставропольского края.

В ходе исследования риска заноса холеры учитывали количество прибывших, в среднем за 5 лет, на каждую территорию края из других регионов Российской Федерации, из стран СНГ и Балтии, а также из государств дальнего зарубежья. Для оценки риска распространения инфекции на административных территориях Ставропольского края проанализированы различные санитарно-гигиенические (процент нестандартных проб воды по микробиологическим показателям в разводящей сети, в источниках централизованного питьевого водоснабжения, коммунальное благоустройство населенных пунктов), благоприятные для возможного распространения инфекции природно-климатические факторы (выделение из окружающей среды вибрионов O1 и non O1/O139 серогрупп).

Для определения принадлежности территорий к той или иной группе риска был применен квартильный анализ, позволяющий выделить четыре группы. Территории с показателями до первого квартиля составляют группу с низкой степенью риска, от первого до второго – со средней; от второго до третьего – с высокой; выше третьего – очень высокой степенью риска.

К первой группе территорий (с низкой степенью риска заноса холеры) отнесены районы: Апанащенковский, Арзгирский, Новоселицкий, Степновский, Туркменский, и Нефтекумский.

Вторую группу составили территории со средней степенью риска: г. Железноводск, г. Лермонтов, г. Буденновск, районы – Ипатовский, Петровский, Труновский, Буденновский, Кочубеевский.

Третья группа – территории с высокой степенью риска: Грачевский, Кировский, Минераловодский, Советский, Изобильненский, Курский, Новоалександровский районы, а также г. Георгиевск.

Четвертая группа – территории с очень высокой степенью риска: города – Минеральные Воды, Невинномысск, Ставрополь, Ессентуки, Кисловодск, Пятигорск, а также Предгорный, Шпаковский и Георгиевский районы. Эти территории отличаются наибольшей миграционной активностью.

Для оценки степени риска распространения холеры административные территории Ставропольского края были разделены на четыре группы по степени риска распространения холеры.

Группа 1 (низкая степень риска распространения холеры): г. Ессентуки, районы – Александровский, Благодарненский, Георгиевский, Кировский, Предгорный, Труновский, Шпаковский, Туркменский, Ипатовский, Апанащенковский, Красногвардейский.

Группа 2 (средняя степень риска): г. Ставрополь, районы – Буденновский, Новоселицкий, Советский, Невинномысск, Курский, Минераловодский, Петровский.

Группа 3 (высокая степень риска): г. Железноводск, г. Пятигорск, районы – Андроповский,

Арзгирский, Грачевский, Нефтекумский, Степновский, Новоалександровский.

Группа 4 (очень высокая степень риска): г. Кисловодск, районы – Изобильненский, Кочубеевский, Левокумский.

При разработке плана санитарно-эпидемиологических мероприятий с целью совершенствования эпидемиологического надзора за холерой следует учитывать степень риска каждой административной единицы края. Для территорий с высокой степенью риска заноса холеры должны быть усилены профилактические меры по выявлению, локализации и ликвидации единичных случаев завоза, в первую очередь среди граждан, прибывших из неблагополучных по холере стран. В районах с повышенным риском распространения заболевания целесообразно активизировать работу по мониторингу объектов окружающей среды на предмет выявления холерных вибрионов, а также усилить надзор за санитарно-гигиеническим состоянием населенных пунктов, объектов водоснабжения, мест массового отдыха населения. При этом необходимо обеспечить готовность медицинских учреждений, а также других заинтересованных служб к работе в условиях массового распространения инфекции в соответствии с действующим нормативным документом СП 3.1.1. 2521-09 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации».

Таким образом, на территории Ставропольского края, относящейся к первому типу по эпидемиологическим проявлениям холеры, выделены административные территории с различной степенью риска заноса и распространения холеры (низкой, средней, высокой и очень высокой). В зависимости от преобладания рисков заноса или распространения холеры определен комплекс первоочередных противохолерных мероприятий на конкретных территориях.

УДК 579.841.95:616.9-022(470.630)“451.10”

**Герасименко Е. В., Дегтярева Л. В.,
Левченко Б. И., Гнусарева О. А.**

СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНОГО ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ В 2003-2012 ГГ.

*ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Туляремия является актуальной проблемой в системе обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Ставропольского края. Из 26 административных районов края 17 энзоотичны по туляремии. После

временного снижения в 1999–2002 гг. эпизоотической активности природного очага отмечено увеличение роста заболеваемости среди населения в 2003–2005 гг., когда заболели 28 человек в семи административных районах края и г. Ставрополе.

Эпидемические проявления туляремии регистрировали на фоне вялотекущих локальных эпизоотий среди диких грызунов. Заболевания, вызванные употреблением воды из открытых водоемов, контаминированной зараженными туляремией дикими мелкими млекопитающими, были зарегистрированы в 2003–2005 гг. в Петровском, Шпаковском и Грачевском районах. Наиболее крупная водная вспышка туляремии, от которой пострадали восемь человек, была отмечена на территории Грачевского района в 2004 г. В это время при исследовании проб воды, взятых из естественных источников методом биологической пробы, изолировали 4 штамма *Francisella tularensis*. Последняя водная вспышка туляремии на территории Ставропольского края была зарегистрирована в Красногвардейском районе в 2007 г., когда при купании в открытом водоеме заразились четыре ребенка до 14 лет.

Уменьшение количества закрытых сельскохозяйственных биотопов (в связи с вывозом соломы с полей или ее дроблением с последующей вспашкой) привело к снижению численности основных носителей микроба туляремии (*Microtus arvalis* Pallas, 1779, *Mus musculus* Linnaeus, 1758), что способствовало ослаблению напряженности эпизоотической и эпидемической ситуаций.

В весенние периоды 2006 и 2007 гг. не было выделено возбудителя туляремии как от мелких млекопитающих, так и от иксодовых клещей, однако летом 2007 г. на территории Красногвардейского района зарегистрировано пять случаев заболевания людей.

На протяжении 2008–2010 гг. численность мелких млекопитающих находилась на низком уровне и даже в осенние периоды показатели численности не превышали 6–8 % попадания. Низкая численность основных носителей и переносчиков, в связи с природными и антропогенными факторами, не способствовала увеличению эпизоотической и эпидемической активности очага.

В результате проведенных лабораторных исследований были получены следующие результаты: выделено через биологическую пробу и идентифицировано от иксодовых клещей, доставленных из Изобильненского района, три культуры возбудителя туляремии и семь культур из Красногвардейского района Ставропольского края, антиген возбудителя туляремии выявлен в 10 % погадок хищных птиц (ХП) в Андроповском районе и в 1,56 % погадок ХП в Изобильненском районе.

Весной 2010 г. при проведении эпизоотологического обследования территории Грачевского и Шпаковского районов Ставропольского края было собрано и исследовано 1144 экземпляра иксодовых клещей. От клещей *D. marginatus*, собран-

ных на флаг в Грачевском районе, выделена одна культура *F. tularensis*.

В осенний период 2011 г. во время эпизоотологического обследования Изобильненского и Андроповского районов при лабораторном исследовании полевого материала методом ПЦР из 207 экз. иксодовых клещей, объединенных в 29 пулов, обнаружена ДНК *F. tularensis* в восьми пулах.

Результаты проведенного эпизоотологического обследования территории Ставропольского края (Андроповский, Изобильненский, Петровский, Красногвардейский и Шпаковский районы) в весенний период 2012 г. свидетельствуют о том, что общая численность мелких млекопитающих не только не увеличилась по сравнению с аналогичным периодом текущего года, но и снизилась с 5,6 % попадания в весенний период 2011 г. до 3,2 % попадания в октябре-ноябре 2011 г. и до 1,1 % попадания весной 2012 г.

О высокой активности природного очага туляремии на территории Ставропольского края свидетельствуют заболевания людей: в первой половине 2012 г. зарегистрированы 9 случаев туляремии против одного – в 2011 г. в 5 административных территориях края: Красногвардейском районе – 4, Предгорном районе – 2, а также по одному случаю – в Петровском, Труновском и Шпаковском районах, выделение двух штаммов *F. tularensis* от иксодовых клещей в Грачевском и Андроповском районах, а также обнаружение фрагментов ДНК *F. tularensis* методом ПЦР в семи пулах при исследовании 4750 экз. иксодовых клещей, собранных на флаг.

Таким образом, представленные материалы указывают на непрекращающийся эпизоотический процесс в виде локальных эпизоотий с эпидемическими осложнениями на фоне многолетней низкой численности мелких млекопитающих при высокой численности иксодовых клещей. Антропогенное вмешательство в сочетании с критическими изменениями природных условий являются определяющими факторами в проявлении эпизоотической и, следовательно, эпидемической активности природного очага туляремии. Вместе с тем происходящие под влиянием этих факторов изменения на очаговых территориях не способны ликвидировать устоявшиеся функциональные и структурные связи очаговых экосистем, поэтому природные очаги содержат постоянную эпидемическую угрозу.

УДК: 616.96:616.988

Дворцова И. В., Москвитина Э. А.,
Пичурина Н. Л.

ИКСОДОВЫЕ КЛЕЩИ – ПЕРЕНОСЧИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Е. Н. Павловский (1964), подчеркивая значение кровососущих членистоногих как среды обитания возбудителей трансмиссивных инфекций, эволюционный характер этих связей в природных очагах, писал: «Все соотношения в биогеоценозе между возбудителем, его донорами, переносчиками и реципиентами сложились в процессе эволюции организмов и межвидовых соотношений на определенном фоне внешней среды без какой-либо зависимости или связи с человеком...». При этом он указывал на то, что «... Донор, в крови которого циркулирует вирулентный возбудитель, может кормить множество кровососущих насекомых и клещей. Во всех них с кровью поступает возбудитель, но лишь в организме специфических переносчиков он обретает возможность дальнейшего существования ...». В фундаментальных трудах В. Н. Беклемишева (1948, 1955), П. А. Петрицевой (1962), Ю. С. Балашова (1967, 1998) показано, что иксодовые клещи являются основными переносчиками возбудителей особо опасных и других инфекционных болезней человека и животных, включая бактерии, вирусы, риккетсии и другие микроорганизмы. При этом значение иксодид в большинстве случаев не ограничивается способностью передавать возбудителя человеку и животным в процессе трансмиссии. Их роль особенно велика как резервуара возбудителей инфекций в природе.

Многие виды клещей являются естественными переносчиками различных возбудителей инфекционных болезней человека.

Установлена роль иксодовых клещей как переносчиков арбовирусов, причем, по мнению М. П. Чумакова (1945), у них отсутствует строгая видовая специфичность к заражению арбовирусами. Так, вирус весенне-летнего энцефалита длительные сроки сохранялся в клещах родов *Hyalomma* и *Rhipicephalus* (Чумаков М. П. и др., 1945), а также многократно выделялся от клещей *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus* и значительно реже – от *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis japonica douglasi*, *Dermacentor silvarum*, *Dermacentor marginatus* (Балашов Ю. С., 1967). От клещей *Hyalomma marginatum marginatum*, *D. marginatus* и других видов выделены антиген, РНК и вирусы клещевого энцефалита, Инко, Тягиня, Батаи, Синдбис, Дхори, Тамды, Бханджа, Бахиг (Петрицева П. А., 1962; Бурлаков С. А., Паутов В. Н.,

1975; Львов Д. К., Ильичев В. Д., 1979; Львов Д. К. и др., 1986, 2007, 2009; Бутенко А. М., 1986; Джаркенов А. Ф. и др., 2007; Пиликова О. М. и др., 2007; Чаусов Е. В., 2009). Имеются сообщения о выявлении зараженных вирусом Западного Нила некоторых видов иксодовых клещей родов *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, ассоциированных с птицами, при мониторинге лихорадки Западного Нила на территории России (Кононова Ю. В. и др., 2008; Чаусов Е. В., 2009). С. Е. Смирновой (2007) показано значение 16 видов иксодовых клещей (*H. m. marginatum*, *H. scupense*, *H. dromedarii*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *R. sanguineus*, *R. bursa*, *R. schulzei*, *I. ricinus*, *Haem. punctata* и других) из шести родов в циркуляции вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) в европейских очагах. В настоящее время в циркуляцию вируса ККГЛ на юге России, кроме доминантного переносчика *H. m. marginatum*, включаются *H. scupense*, *H. anatolicum*, *H. detritum*, *D. marginatus*, *D. niveus*, *D. reticulatus*, *R. rossicus*, *R. sanguineus*, *R. pumilio*, *R. bursa*, *R. schulzei*, *R. evertsi*, *I. ricinus*, *Boophilus annulatus*, *Haem. punctata*, *Haem. parva* (Башкирцев В. Н., 1971; Василенко Н. Ф. и др., 2004, 2007; Тохов Ю. М., 2004, 2009; Денисов А. А. и др., 2005; Климова Л. И. и др., 2005; Котти Б. К., 2005; Лобанов А. и др., 2007; Пиликова О. М. и др., 2007; Подсвилов А. В. и др., 2007; Картоев А. А. и др., 2009).

Эпизоотологический мониторинг на протяжении пятнадцати лет (1999–2013 гг.) природного очага Крымской геморрагической лихорадки в Ростовской области позволил подтвердить ранее полученные данные о том, что основным переносчиком вируса ККГЛ является клещ *H. m. marginatum*. Ареал вируса ККГЛ обусловлен распространением зараженных вирусом ККГЛ клещей *H. m. marginatum*, *D. marginatus*, *R. rossicus*, *Haem. punctata*, *I. ricinus*, *I. laguri* (Москвитина Э. А. и др., 2002, 2004, 2007; Айдинов Г. Т. и др., 2007; Кормиленко И. В., 2010).

Антиген вируса Западного Нила был обнаружен в клещах *H. m. marginatum*, *R. Rossicus*, в пойменно-болотных и степных ландшафтах области. Полученные данные указывают на возможное участие иксодовых клещей в циркуляции вируса Западного Нила и сохранении его в межэпизоотический период (Москвитина Э. А. и др., 2007, 2009; Забашта М. В., 2012; Забашта М. В. и др., 2013). У клещей *D. marginatus* обнаружены маркеры вирусов Тягиня, у *R. rossicus* и *H. m. marginatum* – Батаи, *H. m. marginatum* – Инко, *R. rossicus* – Синдбис. Антигены вирусов Калифорнийской серогруппы (Инко, Тягиня, зайца-русака) выявлены в пробах от клещей *R. rossicus* и *H. m. marginatum* (Пичурина Н. Л. и др., 2007; Айдинов Г. Т. и др., 2009; Кормиленко И. В. и др., 2009). В пробах от клещей *D. Marginatus* впервые в 2013 г. выявлен антиген вируса клещевого энцефалита в Ростовской области.

Иксодовые клещи являются составляющими

паразитарных систем в природных очагах лихорадки Ку и других риккетсиозов: марсельской лихорадки, клещевого сыпного тифа, Астраханской пятнистой лихорадки, клещевого риккетсиоза, пятнистой лихорадки Скалистых гор – в России, Хорватии, Косово, во Франции, Португалии (Петрищева П. А., 1962; Балашов Ю. С., 1998; Злобин В. И. и др., 2001; Тарасевич И. В. и др., 2002; 2007; Бальжинимаева И. Ц., Аитов К. А. 2008; Bacellar F. et al., 1995; Punda-Potic V. et al., 2002; Sanogo Y. et al., 2003; Fournier P. et al., 2003). При этом Ю. С. Балашовым и А. Б. Дайтером (1973) установлено, что наиболее совершенны формы взаимoadaptации между клещами и *Coxiella burnetii*. Для иксодид установлена трансфазовая и транс-овариальная передача *C. burnetii*, выделение их из организма, в основном с фекалиями, а также с коксальной жидкостью и слюнным секретом, отсутствие инактивации риккетсий в голодающих особях или во время зимовки, переживание возбудителя в клещах и их выделениях (Петрищева П. А., 1959; Дайтер А. Б., 1963; Токаревич К. Н., 1979; Балашов Ю. С., Дайтер А. Б., 1973).

Антигены *C. burnetii* обнаружены нами при комплексном исследовании клещей *D. marginatus*, *H. m. marginatum*, *R. rossicus*, *I. ricinus*, *Haem. punctata* и *H. scupense* на наличие возбудителей клещевых инфекций (Кормиленко И. В. и др., 2008, 2009; Кормиленко И. В., 2010).

В отношении бактериальных инфекций наиболее известна роль иксодовых клещей в хранении и передаче *Francisella tularensis*. Наиболее эффективными переносчиками являются виды рода *Dermacentor* (Балашов Ю. С., 1967). В Ростовской области основным переносчиком туляремии является *D. marginatus*, но в циркуляции *F. tularensis* участвуют также иксодовые клещи *R. rossicus*, *I. laguri*, *I. ricinus*, *Haem. punctata*, *H. m. marginatum* (Шевченко С. Ф., 1960; Налетов В. Г., 1991; Пичурина Н. Л., 1997, 2007; Орехов И. В. и др., 1998, 2009, 2012).

В настоящее время установлено, что иксодовые клещи родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Amblyomma*, *Boophilus*, *Haemaphysalis* являются резервуарами и переносчиками боррелий – возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) (Лайм-боррелиозов) (Крючечников В. Н., 1985; Коренберг Э. И., 1993, 2002). М. В. Скачков и др. (2007) отмечают циркуляцию боррелий в клещах *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *R. rossicus*. Впервые на территории Ростовской области установлена спонтанная зараженность *I. ricinus*, *D. marginatus* и *R. rossicus* *Borrelia s.l.*, геновида *B. afzelii*, наиболее часто встречающихся в европейской части России и являющихся этиологическим фактором боррелиоза (Кормиленко И. В. и др., 2008, 2009; Кормиленко И. В., 2010; Романова Л. В. и др., 2010; Дворцова И. В. и др., 2014).

Таким образом, иксодовые клещи в роли переносчиков вирусов, бактерий, риккетсий и других микроорганизмов имеют существенное значе-

ние в формировании и поддержании валентности природных очагов инфекционных болезней, реализации трансмиссивного и других механизмов передачи возбудителей. При этом является актуальным изучение инфекционных болезней, представляющих проблему региональной инфекционной патологии. Вскрытие взаимоотношений членистоногих-переносчиков с микроорганизмами исключительно важно не только ввиду теоретической значимости этой проблемы, но и для дальнейшего совершенствования санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий при природно-очаговых болезнях.

УДК [576.895.42+599.32]:614.4

Дегтярев Д. Ю.

**РЕЗУЛЬТАТЫ
ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО
ОБСЛЕДОВАНИЯ ПРИРОДНОГО
ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ НА
ТЕРРИТОРИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО
КРАЯ**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Во время проведения полевых работ для учета численности и изучения видового состава мелких млекопитающих было выставлено 4400 малых ловушек «Геро». Отловлено 113 зверьков различных видов, в том числе: обыкновенных полевков (*Microtus arvalis*) – 26, степных мышей (п/р *Sylvaemus*) – 56, домовых мышей (*Mus musculus*) – 10, белозубок малых (*Crocidura suaveolens*) – 17, серых хомячков (*Cricetulus migratorius*) – 4. Установлено, что доминирующим видом среди мелких млекопитающих в открытых биотопах является мышь степная, индекс доминирования которой в среднем составил – 37,5 %, с колебаниями от 35,7 % до 39,7 % в полезащитных насаждениях.

При сборе пастбищных клещей с поверхности почвы на флаг пройдено – 10,25 флага/часов, собрано – 3012 экземпляров пастбищных клещей.

Анализ материалов изучения видовой структуры и динамики численности мелких млекопитающих показал, что микропопуляции грызунов в основных биотопах (полезащитные насаждения, целина, пахота, посевы озимых зерновых культур) находятся на высоком уровне. Доминирующим среди мелких млекопитающих видом оставалась мышь степная, индекс доминирования которой составлял 38,3, субдоминантом (при относительно невысокой численности – 0,9 % попадания) являлась полевка обыкновенная, индекс доминирования которой – 25,5%. Относительно высокой отмечена численность белозубки малой - от 0,3 %

до 1,2 % попадания на целинных участках и в полезащитных насаждениях соответственно.

В ходе весеннего и осеннего эпизоотологического обследования территории Ставропольского края общая численность мелких млекопитающих увеличилась с 3,2 % попадания в октябре-ноябре 2011 г. до 5,6 % попадания в весенний период 2012 года.

Доминирующим видом среди пастбищных клещей являлся *Dermacentor reticulatus*, вторым по численности – *Dermacentor marginatus*. Основными станциями обитания клещей *D. reticulatus* на обследуемых территориях являлись целинные участки и полезащитные насаждения с зарослями сухой травы и кустарникового яруса. Наиболее высокая встречаемость клещей этого вида на 1 км учетного маршрута отмечена на целинных участках. В Изобильненском районе индекс доминирования клещей этого вида составил 84,4 %. В лесополосах встречаемость клещей вида *D. reticulatus* отмечалась в 2 раза ниже, чем на целинных участках, и составила 12,3 экз. при индексе доминирования 71,2 %.

Высокие показатели индекса встречаемости *D. marginatus* в забурьяненных участках с середины весны обусловлены, на наш взгляд, их экологической требовательностью к более постоянным условиям среды обитания (температура окружающей среды – +12–15°C). Численность пастбищных клещей на территории обследованных районов в начале весны 2011 г. находилась на несколько низком уровне по сравнению с осенними периодами.

Результаты исследования методом ПЦР полевого материала показали наличие в организме пастбищных клещей *D. reticulatus*, собранных в Изобильненском и Андроповском районах, ДНК *Francisella tularensis* обнаружена в пробах клещей. Пулы с положительными результатами ПЦР исследованы с помощью иммунохроматографических тестов. Туляремийный антиген не обнаружен.

Особое внимание следует обратить на то, что места находок обнаружения ДНК возбудителя туляремии в пробах иксодовых клещей находятся в активной зоне отдыха населения, что не исключает возможности заболевания людей туляремией среди непривитых декретированных групп сельского населения, охотников и членов их семей, отдыхающих.

УДК 332.3:619:616.98:579.852.11:004(470.63)

**Дегтярев Д. Ю., Воропаев В. В.,
Головинская Т. М.**

**РАЗРАБОТКА ЭЛЕКТРОННОГО
КАДАСТРА СИБИРЕЯЗВЕННЫХ
СКОТОМОГИЛЬНИКОВ
НА ТЕРРИТОРИИ
ИЗОБИЛЬНЕНСКОГО РАЙОНА
СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ГИС-ТЕХНОЛОГИЙ**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

В Постановлении Главного государственного санитарного врача Российской Федерации (№ 41 от 27.06.2008) рекомендовано провести учет всех сибиреязвенных скотомогильников и мест захоронения трупов сибиреязвенных животных с использованием топографических способов обозначения их на местности, в том числе с определением географических координат. К сожалению, это делается не везде и не всегда. На территории Ставропольского края зарегистрировано 74 сибиреязвенных скотомогильника, при этом 25 из них являются бесхозными и не соответствуют ветеринарно-санитарным требованиям (М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2011). Места захоронения сибиреязвенных животных могут явиться причиной вспышек сибирской язвы в результате прямого вмешательства человека, геоморфологических процессов (осыпание склонов, подмывание берегов рек, формирование оврагов и т. п.) и чрезвычайных ситуаций (наводнения, землетрясения и др.). Скотомогильники, размещённые на территории Ставропольского края, не имеют точных географических координат месторасположения. В настоящее время для учёта и эпизоотолого-эпидемиологической характеристики стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП) используется метод геоинформационных систем (ГИС) (Черкасский Б. Л., с соавт., 2005; Буравцева Н. П., с соавт., 2011; Антюганов С. Н., с соавт., 2012). Создание геоинформационной базы данных по скотомогильникам имеет большое практическое значение для обеспечения биологической безопасности при чрезвычайных ситуациях (наводнения, землетрясения, военные конфликты), строительстве новых объектов и для прогнозирования эпидемических и эпизоотических ситуаций по сибирской язве в крае.

Цель наших исследований – геокодирование с помощью GPS-навигатора сибиреязвенных скотомогильников и составление электронного кадастра скотомогильников в Изобильненском районе Ставропольского края.

По нашим данным, первые заболевания лю-

дей и животных в Изобильненском районе зарегистрированы в 1898 г. В дальнейшем, вплоть до 1988 г., в течение 37 лет сибирская язва появлялась в различных населённых пунктах района. За этот период зарегистрировано 25 СНП. Наиболее неблагополучными оказались такие населённые пункты, как г. Изобильный, с. Московское, с. Птичьё, с. Тищенское, станицы Новотроицкая, Рождественская, Филлимоновская. За этот промежуток времени заболели сибирской язвой 44 человека, пали 39 голов крупного рогатого скота, 157 голов мелкого рогатого скота и 3 лошади. Район считался благополучным по сибирской язве, т. к. активность СНП проявлялась более 20 лет тому назад, все СНП можно было отнести к разряду неманифестных пунктов.

Однако в 2013 г. в поселке Солнечнодольске, где, по нашим данным, сибирская язва ранее не наблюдалась, возникла вспышка сибирской язвы. Заболели 2 человека, и пало 2 головы среди овец. Заболевание сибирской язвой было подтверждено выделением возбудителя сибирской язвы от людей и из органов павших животных. Как и при других аналогичных вспышках, в поселке Солнечнодольске были отмечены нарушения санитарно-гигиенических правил ведения животноводческого хозяйства, из которых наиболее важные – это неучтённое поголовье скота и неполный охват животных прививками вакциной против сибирской язвы. Следует отметить, что появлению вспышки сибирской язвы на территории Изобильненского района предшествовали ливневые дожди в этот период. Известно, что ливневые дожди способствуют вымыванию сибиреязвенных спор из глубинных слоев почвы, в связи с этим появляются благоприятные условия для размножения и накопления сибиреязвенного микроба в верхних слоях почвы, что в конечном итоге приводит к инфицированию животных во время выпаса. В результате в Изобильненском районе, в посёлке Солнечнодольске появился новый СНП. Вполне можно предположить, что на этой территории наблюдалось не возникновение нового неблагополучного пункта, а переход не учтённого ранее старого, неманифестного в манифестное состояние.

В Изобильненском районе зарегистрировано 18 скотомогильников, из них 8 скотомогильников обозначены, имеют бетонные площадки с трафаретами, остальные – без обозначений. Был произведён выезд на места расположения скотомогильников для определения их географических координат. В результате географические координаты были определены лишь у 6 скотомогильников, расположенных в следующих населённых пунктах:

– станица Староизобильненская, МТФ № 3. Захоронение находится на территории поля, засеянного пшеницей, на месте захоронения имеется плита с надписью: «Осторожно! Сибирская язва». Место захоронения окружено тремя рвами;

– хутор Сухой, СПК «Рассвет». Предположительно захоронение находится рядом с кошарой,

которая в настоящее время разрушена. Обозначений никаких не обнаружено, географические координаты были определены ориентировочно;

– хутор Гранкин, хозяйство Филлимоновское. На сегодняшний день хутора не существует. Была обнаружена забетонированная площадка без трафарета;

– станица Каменнобродская. Около свалки был обнаружен бетонный столб с трафаретом;

– посёлок Передовой, хозяйство «Финист». На территории завода обнаружена площадка с трафаретом с надписью: «Выпас скота, земляные работы запрещены!»;

– посёлок Солнечнодольск. Географические координаты были определены в 2013 г., когда были закончены все работы по ликвидации сибиреязвенного очага. На месте сжигания различной утвари, трупов животных была установлена площадка с трафаретом.

После определения географических координат шесть скотомогильников были нанесены на электронные географическую и административную карты Изобильненского района в ГИС.

В заключение необходимо отметить, что точное расположение 12 скотомогильников не установлено. Это может привести к появлению новых случаев сибирской язвы в районе.

УДК 616.995.122-036.2(571.61/.62)«2009/2013»

Драгомерецкая А. Г.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОЧАГОВ НАНОФИЕТОЗА В УСЛОВИЯХ ПРИАМУРЬЯ

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Хабаровск

На территории Хабаровского края функционируют очаги нанофиетоза – эндемичного для Приамурья кишечного трематодоза человека и животных. Фактором передачи возбудителя нанофиетоза *Nanophyetussal mincolaschik hobalowi* (Skrjabinet Podjapolskaja, 1931) окончательными хозяевами являются лососеобразные рыбы. Привычка употребления рыбы в сыром и малосоленом виде, распространенная в настоящее время не только среди представителей коренных народов Приамурья, но и среди пришлого населения, в сочетании с совокупностью природных факторов, создающих благоприятные условия для обитания промежуточных и дополнительных хозяев нанофиетуса, обеспечивают высокие уровни пораженности нанофиетусами населения на отдельных территориях и делают возможным заражение вне очагов.

Учитывая эпизоотический характер циркуляции возбудителя нанофиетоза на большей части

ареала, главное внимание в системе профилактических мероприятий должно уделяться снижению риска заражения населения. В последние десятилетия в отчетах Роспотребнадзора зарегистрированы лишь единичные случаи заражения людей нанофиетусами. В то же время в Приамурье сохранились благоприятные условия для существования промежуточных и дополнительных хозяев гельминта. В связи с этим возникла необходимость оценить реальную пораженность населения и степень инвазивности рыб метацеркариями *N. s. schikhobalowi*, определить социальные факторы, способствующие распространению нанофиедоза среди жителей Приамурья.

Материалы и методы

Сотрудниками лаборатории паразитологии ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора в 2009-2013 гг. в ходе экспедиционных выездов был собран биологический материал (фекалии) от населения четырех южных районов Хабаровского края (всего 19 населенных пунктов). Также в лаборатории паразитологии ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора проводили исследования материала от жителей города Хабаровска, обратившихся с целью обследования на паразитозы. Всего исследовано 10423 пробы. В лаборатории материал был исследован по Като и эфир-формалиновым методом.

Отлов рыбы для паразитологического исследования производился совместно с сотрудниками Хабаровского филиала ФГУП «Тихоокеанский рыбохозяйственный центр» в реке Амур и ее горных притоках – реках Хор, Анюй и Манома. В указанных водоемах был собран ихтиологический материал в количестве 529 особей рыб 7 видов (хариус нижеамурский *Thymallus tugarinae*, таймень сибирский *Huchotaimen*, ленок тупорылый *Brachymystax tumensis*, ленок острорылый *Brachymystax lenok*, кета осенняя *Onchorhynchus keta autumnalis*, щука амурская *Esox reicherti*, язь амурский *Leuciscus waleskii*).

У исследуемых особей измеряли длину и вес, определяли пол и возраст. Компрессорным методом и методом переваривания в искусственном желудочном соке исследовали мышечную ткань туловища (верхний слой 2–3 мм) и плавников, почки, печень и жабры. В каждой пробе производили подсчет обнаруженных метацеркарий, затем определяли интенсивность инвазии исследуемой особи, после чего определяли процентное соотношение распределения метацеркарий в пробе к общему количеству личинок в рыбе.

Затем рассчитывали следующие показатели: *экстенсивность инвазии (ЭИ)* – число зараженных рыб в выборке, выраженное в процентах; *среднюю интенсивность инвазии (ИИ_{ср})* – число метацеркарий, приходящееся в среднем на одну зараженную рыбу; *амплитуду интенсивности (АИ)* – минимальное и максимальное количество метацеркарий в одной зараженной особи и *индекс обилия*

(*ИО*) – число паразитов, в среднем приходящееся на одну исследованную рыбу (не только зараженные) данного вида.

Результаты исследования

По результатам копроовоскопических исследований яйца нанофиетуса были обнаружены в материале от населения 6 населенных пунктов из 19. Показатели пораженности колебались от 0,06 % в городе Хабаровске до 28,4 % в поселке Среднехорском.

Следует отметить, что среди инвазированных жителей района имени Лазо были дети в возрасте от одного года. При опросе жителей с. Арсеньевы выяснили, что для многих детей, как и для взрослых, тала является обычным повседневным блюдом.

Блюда из сырой рыбы являются неотъемлемым элементом национальной кухни коренных народов Приамурья и составляют часть рациона многих представителей пришлого населения. По данным опроса и анкетирования, чаще всего в сыром виде употребляется хариус ввиду его высоких потребительских качеств и наибольшего количества в уловах. Ленки также используются для приготовления талы (сырая рыба, нарезанная тонкими пластинками), но чаще из них готовят юколу – очищенную от костей и высушенную на воздухе рыбу. При этом в условиях выезда с целью рыбной ловли на несколько дней рыба вялится малое время и употребляется в слегка подвяленном виде. К тому же количество соли, используемое для приготовления данного блюда, не позволяет достичь необходимых концентраций для обеззараживания от личинок нанофиетуса. Также из тайменей и ленков готовят строганину (нарезанная тонкими ломтиками замороженная рыба), но, вероятно, в домашних условиях не многие уделяют должное внимание соблюдению режимов обеззараживания путем заморозки рыбы. Таймени, особенно длиной более 300 мм, достаточно редки в уловах, поэтому сравнительно реже попадают на стол жителей Хабаровского края.

Вышеперечисленные особенности питания служат причиной высоких уровней пораженности нанофиетусами жителей отдаленных сел, расположенных по берегам горных притоков Амура. Но, очевидно, они были бы значительно ниже при условии более низкой инвазивности рыбы, которую население употребляет.

В результате проведенных исследований в целом выявлен очень высокий уровень инвазивности лососеобразных рыб метацеркариями нанофиетуса из рек Хор, Анюй и Манома. Показатели экстенсивности инвазии (ЭИ) были немного ниже у рыб из реки Манома по сравнению с таковыми из рек Хор и Анюй. Сравнение ЭИ разных видов лососеобразных рыб показало, что в наибольшей степени заражен ленок острорылый. Средняя интенсивность инвазии также была максимальна у ленка острорылого во всех трех реках.

У исследуемых особей наблюдалось увеличе-

ние всех показателей инвазированности с возрастом.

Половая принадлежность исследуемых особей рыб не влияла на степень интенсивности инвазии и распределение метацеркарий в теле рыбы.

Чрезвычайно высокие показатели инвазированности ленка острорылого (100 % ЭИ и ИИ от 1683 личинок на рыбу у годовиков до 9341 метацеркарий у восьмилетних особей) делают максимальным риск заражения населения нанофиетусами при употреблении этого вида рыбы в пищу в необеззараженном виде. Безопасной такую рыбу можно считать только после высокотемпературной обработки.

Подсчет личинок нанофиетуса в разных частях тела рыбы позволил выявить особенности локализации метацеркарий. Начиная с 2–3 летнего возраста и старше, в мышцах туловища лососеобразных рыб содержится в среднем около 16 % метацеркарий. А в почках и мышцах поясных конечностей содержится более 80 % личинок. Такое распределение метацеркарий не позволяет пользоваться общепринятой методикой (подсчетом обнаруженных личинок в вырезке из средней трети спины рыбы) и получать достоверные данные об ИИ лососеобразных рыб метацеркариями нанофиетуса. В связи с этим возникла необходимость разработки простого метода определения ИИ при заражении рыбы этими трематодами.

Ввиду того, что среди исследованного ихтиологического материала наибольшая выборка имела по хариусу нижеамурскому, разработку метода вели, основываясь на данных исследования именно этого вида. Интенсивность инвазии метацеркариями нанофиетуса была определена у 103 нижеамурских хариусов длиной от 120 мм до 300 мм, из них 81 экземпляр промыслового размера.

На мышцы туловища приходилось в среднем 16 % метацеркарий. Единичные экземпляры находились на жабрах и в печени. В почках содержался в среднем 51 % от всех метацеркарий, обнаруженных в рыбе. Указанное процентное соотношение наблюдалось у особей в возрасте 2–3 лет и старше, при котором они достигают размера 180 мм и более (промыслового размера). У годовиков отмечалось несколько иное распределение метацеркарий, часто большее количество метацеркарий обнаруживалось в мышцах плавников. Но при низкой ИИ (2–5 экземпляров) метацеркарии обнаруживались только в почках.

Поэтому считаем возможным для приблизительного определения интенсивности инвазии у хариуса нижеамурского промыслового размера использовать формулу:

$$\text{ИИ} = 2n,$$

где ИИ – интенсивность инвазии,

n – число метацеркарий, обнаруженных в почках.

Так как почки являются органом, где метацеркарии нанофиетуса обнаруживаются при любой ИИ, при определении ЭИ партии рыб (в возрасте 1+ и старше) можно ограничиться исследованием только указанной части тела рыбы. Использование данного метода позволит уменьшить трудоемкость и сократить время исследования. Возможно применение данного метода и при исследовании зараженности других видов лососеобразных.

Локализация большинства метацеркарий в почках и мышцах плавников лососеобразных рыб делает возможным снижение риска заражения путем тщательного удаления почек и плавников.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. В Приамурье в настоящее время сохраняются и функционируют очаги нанофиетоза с пораженностью населения до 28,4 %. Наибольшие показатели пораженности населения нанофиетусами выявлены у жителей населенных пунктов, расположенных по берегам рек Хор в районе имени Лазо и Анюй, в Нанайском районе Хабаровского края.

2. У лососеобразных рыб из горных притоков Амура – рек Хор, Анюй и Маном регистрируются высокие показатели экстенсивности и интенсивности инвазии метацеркариями *N. s. schikhobalowi*, которые нарастают с возрастом рыбы.

3. Максимальный риск заражения населения нанофиетусами существует при употреблении в пищу в необеззараженном виде острорылого ленка.

4. Слабая осведомленность населения о мерах профилактики нанофиетоза, высоком риске заражения нанофиетусами при употреблении необеззараженной рыбы способствует сохранению неблагоприятной эпидемической ситуации по нанофиетозу в районе имени Лазо и Нанайском районе Хабаровского края.

УДК 614.3+614.4(477.75)

Ефременко Д. В., Рязанова А. Г.,
Дикова С. П., Кузнецова И. В.,
Вольнкина А. С.

**ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ СПЭБ
ФКУЗ СТАВРОПОЛЬСКИЙ
ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
РОСПОТРЕБНАДЗОРА
ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ САНИТАРНО-
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО
БЛАГОПОЛУЧИЯ В КРЫМСКОМ
ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ В 2014 ГОДУ**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

СПЭБ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт в соответствии с приказом Роспо-

требнадзора участвовал в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения в период летней оздоровительной кампании на территории Крымского федерального округа (с 25 мая по 15 сентября 2014 года).

Местом дислокации СПЭБ были определены лабораторные базы отделов ГУ «Крымский республиканский лабораторный центр ГСЭС» в г. Евпатория – западное побережье Республики Крым, и г. Феодосия – восточное побережье.

СПЭБ выехал в Республику Крым 21.05.2014 г. в составе двух мобильных лабораторий на автошасси (бактериологическая лаборатория и лаборатория индикации) и двух единиц вспомогательного автотранспорта. С 23.05. по 24.05.2014 г. проводилось развертывание СПЭБ на базе стационарных помещений лабораторных центров и лабораторных модулей на автошасси в г. Евпатория и стационарных помещений в г. Феодосия (подготовка рабочих мест, установка и подключение оборудования и др.). С 25.05.2014 г. СПЭБ приступил к работе.

Общий состав СПЭБ на лабораторных базах в г. Евпатория и г. Феодосия изначально включал 13 специалистов, впоследствии состав бригады был сокращен до 6 человек.

Бригада была оснащена лабораторным оборудованием для проведения исследований клинического материала и проб из объектов окружающей среды методом ПЦР (в т. ч. 4 амплификатора с гибридационно-флуоресцентной детекцией результатов в реальном времени), иммуносерологическими методами (ИФА, люминесцентная микроскопия, ИХ-тесты), автоматическими микробиологическими анализаторами для исследования продуктов питания, воды, идентификации микроорганизмов, а также широким спектром диагностических препаратов для выявления возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ), воздушно-капельных, природно-очаговых, особо опасных инфекций (ООИ) и биологических токсинов.

Для организации работы СПЭБ были разработаны схемы движения материала от больных и проб из объектов окружающей среды между СПЭБ, лабораториями санитарно-эпидемиологической службы и медицинскими организациями Республики Крым, определены точки отбора и порядок доставки материала для специалистов (силами специалистов) СПЭБ.

На западном побережье Республики Крым силами СПЭБ проводился мониторинг возбудителей инфекционных болезней в клиническом материале и пробах окружающей среды в городском округе Евпатория, Черноморском, Раздольненском и Сакском районах. На восточном побережье – в городских округах Феодосия и Судак. Согласно разработанным планам, в контрольных точках проводился еженедельный мониторинг морской воды в рекреационных зонах (в местах массового купания и сброса воды из канализационно-очистных

сооружений (КОС) после очистки), сточных вод (инфекционных стационаров и КОС после обеззараживания), воды открытых водоемов, артезианских скважин методом ПЦР на наличие РНК энтеровирусов, норовирусов, ротавирусов, астровирусов, ДНК возбудителя холеры. Периодически проводились исследования воды из системы горячего водоснабжения и бассейнов на наличие возбудителя легионеллеза, скрининг продуктов питания на санитарно-микробиологические показатели и возбудителей ОКИ. Информация об обнаружении возбудителей инфекционных болезней направлялась местным органам санитарно-эпидемиологической службы для организации комплекса противоэпидемических мероприятий. Исследования клинического материала от больных, поступающего из медицинских организаций Республики Крым, были в основном направлены на выявление возбудителей ОКИ, ОРВИ, природно-очаговых инфекций. По эпидемиологическим показаниям проводились обследования декретированного контингента санаторно-гостиничного комплекса Республики Крым. В связи с возрастающей активностью в летний период клещей, являющихся переносчиками возбудителей болезней, актуальных для Республики Крым, таких как Марсельская лихорадка, Лайм-боррелиоз, вирусный клещевой энцефалит, Крымская геморрагическая лихорадка, Ку-лихорадка, СПЭБ проводились исследования клещей, снятых с людей после укуса.

Отчет о проделанной работе за сутки ежедневно направлялся Руководителю Роспотребнадзора, и. о. Руководителя Межрегионального Управления Роспотребнадзора по Республике Крым и городу Севастополю и директору ФКУЗ Ставропольский противочумный институт.

В период работы специалисты СПЭБ провели обучение на рабочем месте сотрудников ГУ «Крымский РЛЦ ГСЭСУ» методам пробоподготовки клинического и полевого материала, специфической индикации (ПЦР, ИФА).

Совместная работа специалистов СПЭБ и специалистов санитарно-эпидемиологической службы Крымского федерального округа в период летней оздоровительной кампании 2014 г. позволила проводить эффективный мониторинг возбудителей инфекционных болезней, в т. ч. вирусной природы, в клиническом материале и объектах окружающей среды, а также расширить диагностические возможности и укрепить общую лабораторную сеть округа.

УДК 614.446:614.38(470.620)

**Ефременко Д. В., Рязанова А. Г.,
Кузнецова И. В., Дикова С. П.****ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ РАБОТЫ
СПЭБ ФКУЗ СТАВРОПОЛЬСКИЙ
ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ XXII
ОЛИМПИЙСКИХ ЗИМНИХ ИГР
И XI ПАРАЛИМПИЙСКИХ ЗИМНИХ
ИГР 2014 ГОДА В Г. СОЧИ***ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Одно из основных направлений работы при организации крупных международных мероприятий – обеспечение биологической безопасности участников, гостей и местного населения. Проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения массовых мероприятий связаны, прежде всего, с возможными вспышками инфекционных болезней, характерных для данной местности, а также заносом различных нозологических форм инфекций с других территорий. Существует угроза проведения биологических террористических актов.

Имеющиеся эпидемиологические риски в период XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи (Игр), связанные с прибытием большого числа участников и гостей, возможной перегрузкой систем жизнеобеспечения (водоснабжения, канализации, общественного питания) и ведущие к увеличению объема лабораторных исследований клинического материала и проб из объектов окружающей среды, предопределили необходимость укрепления лабораторной сети региона. Учитывая имеющийся опыт организации крупных международных мероприятий на территории Российской Федерации, а также опыт привлечения специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) противочумных институтов Роспотребнадзора для ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций, связанных с эпидемическими проявлениями опасных инфекционных болезней, стихийными бедствиями и гуманитарными катастрофами, с целью расширения возможностей общей лабораторной сети региона проведения Игр Роспотребнадзором была привлечена СПЭБ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт.

Работа СПЭБ в г. Сочи с 19 января по 20 марта 2014 г. осуществлялась на следующих лабораторных базах:

- основная стационарная лабораторная база – Сочинское противочумное отделение ФКУЗ Причерноморская противочумная станция;
- дополнительная лабораторная база – Сочинское отделение ФБУЗ Центр гигиены и эпидемио-

логии в Краснодарском крае, где функционировала бактериологическая лаборатория на автошасси;

- резервная лабораторная база (место дислокации мобильного комплекса СПЭБ на автошасси) – п. Веселое. Могла быть использована при необходимости дополнительных лабораторных мощностей.

Задачами лабораторий СПЭБ в период проведения Игр были:

- исследование клинического материала и проб из объектов окружающей среды по эпидемиологическим показаниям, в т. ч. при подозрении на особо опасную инфекцию и инфекцию, требующую проведения мероприятий по санитарной охране территории РФ;
- обследование объектов проживания и спортивных объектов на легионеллы;
- скрининговые исследования продуктов питания на наличие возбудителей особо опасных, острых кишечных инфекций и биологических токсинов;
- исследование воды из источников централизованного водоснабжения на группу кишечных вирусов, морской воды – на вибриофлору;
- профилактическое обследование декретированных групп на возбудители острых кишечных инфекций.

Для выполнения поставленных задач СПЭБ была оснащена современным диагностическим оборудованием для проведения ПЦР-исследований (в т. ч. – 6 амплификаторов с детекцией результатов в реальном времени), иммуносерологических исследований, биочип-анализаторами – для выявления возбудителей опасных инфекций бактериальной и вирусной природы и биологических токсинов, автоматическими анализаторами – для идентификации микроорганизмов и проведения санитарно-микробиологических исследований, оборудованием для контроля атмосферного воздуха на наличие патогенных биологических агентов. Специалистами СПЭБ была обеспечена готовность к лабораторной диагностике 82 нозологических форм инфекций, генотипированию и секвенированию возбудителей опасных инфекционных болезней.

Всего за период работы в СПЭБ было проведено 11999 исследований материала от людей и проб из объектов окружающей среды (18,3 % от общего количества исследований). Основное количество исследований было направлено на выявление возбудителей острых кишечных инфекций у декретированного контингента – работников общественного питания (внезапные обследования), а также на лабораторный контроль продуктов питания и воды централизованного водоснабжения.

УДК 595.422:599.323.43(470.62/.67)

Жильцова А. Ю.

ФАУНИСТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ ГАМАЗОВЫХ КЛЕЩЕЙ ОБЩЕСТВЕННОЙ ПОЛЕВКИ И ЕЁ ГНЕЗД В ЦЕНТРАЛЬНОМ ПРЕДКАВКАЗЬЕ

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Гамазовые клещи (Parasitiformes, Mesostigmata, Gamasina) из паразитиформных клещей являются наиболее многочисленной группой по видовому составу и наиболее разнообразной в экологическом отношении.

Цель данной работы: выявить состав фаунистических комплексов гамазовых клещей, а также трофическую и топическую структуры их фауны у общественной полевки (*Microtus socialis* (Pallas, 1773)) и в ее гнездах.

Материалом послужили сборы клещей, проведенные в Центральном Предкавказье в 2005–2012 гг. При оценке видового разнообразия и обилия клещей использовали общепринятые значения: ИО – индекс обилия, ИВ – индекс встречаемости, ИД – индекс доминирования.

Из двух топических группировок (гнездо, хозяин) наибольшее видовое разнообразие клещей имеет гнездо полевки. Фаунистический комплекс клещей представлен 25 видами, 15 родами из 8 семейств: *Parasitidae* – 6 видов, *Veigaiidae* – 1, *Macrochelidae* – 2, *Pachylaelapidae* – 2, *Eviphididae* – 1, *Laelapidae* – 10, *Haemogamasidae* – 1, *Hirstionyssidae* – 2, с высокой численностью (ИО – 18,7). В видовом отношении (13 видов) и количественно (ИД – 40,5, ИО – 48,8) преобладала группа паразитических гамазин, основу которых составили факультативные гематофаги (8 видов с ИД – 21,6 и ИО – 6,2). Свободноживущие клещи представлены 12 видами с невысокой численностью (ИД – 19,2, ИО – 5,7), из которых доминировали хищники (зоофаги) – 9 видов.

Структура фауны гамазин гнезда представлена тремя категориями, с отсутствием доминирующих видов. Ядро фауны составили многочисленные виды *Androlaelaps glasgowi*, *Eulaelaps stabularis*, *Haemogamasus nidi* – хищники и факультативные гематофаги с ИД – 68,0 %. Увеличение разнообразия фауны гамазин в гнезде идет за счет паразитических клещей, а именно гнездово-норовых паразитов, основу которых составили клещи из двух семейств (*Haemogamasidae* и *Laelapidae*).

Фаунистический комплекс общественной полевки представлен 17 видами, 10 родами, 4 семействами: *Parasitidae* – 4 видов, *Laelapidae* – 8, *Haemogamasidae* – 3, *Hirstionyssidae* – 2 вида, с численностью (ИО – 4,3). Так же, как и в гнезде,

в видовом отношении (13 видов) и количественно (ИД – 86,5, ИО – 2,8) преобладала группа паразитических гамазин, большинство из которых являются факультативными и облигатными гематофагами. Свободноживущие клещи представлены 4 видами с маленькой численностью (ИД – 10,3, ИО – 1,7).

Структура фауны клещей полевки представлена четырьмя категориями; ядро – 2 видами *Laelaps hilaris* (ИД – 35,8) и *Hirstionyssus isabellinus* (ИД – 19,2). Особенности гамазофауны общественной полевки является наличие с высокой численностью постоянного (эпизодного) паразита – *Laelaps hilaris* – специфического паразита серых полевок рода *Microtus*.

Проведенный анализ показал, что сходство фаун гамазин хозяина – общественной полевки и ее гнезда – определяется присутствием гнездово-норовых нидиколов, в том числе и многих паразитических гематофагов (*Hi. Isabellinus*, *Hg. nidi*, *E. stabularis*), использующих хозяина для кровососания, а гнездо для размножения и дальнейшего развития.

УДК 616-036.2

Залесских А. А.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТИТА А И ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУСА В КРУПНОМ ГОРОДЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И. Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Гепатит А (ГА) до настоящего времени относится к массовым заболеваниям человека как в мире, так и в нашей стране. Ежегодно, по оценке ВОЗ, в мире насчитывается около 1,4 миллиона случаев заболевания гепатитом А. Российская Федерация относится к странам со средним уровнем распространенности инфекции. В 2013 г. заболеваемость гепатитом А в России составила 5,78⁰/₀₀₀₀. Несмотря на выраженную тенденцию к снижению официально регистрируемой заболеваемости, до настоящего времени эта инфекция остается актуальной для большинства территорий страны.

В последнее десятилетие произошли существенные изменения эпидемического процесса гепатита А, выразившиеся, в первую очередь, в значительном снижении его интенсивности, преобладании вспышечной заболеваемости, изменении

возрастной структуры заболеваемости в сторону «повзреления» инфекции.

Как и в предыдущие годы, гепатит А характеризуется повсеместным, но неравномерным распространением, поэтому общероссийские показатели не отражают особенностей эпидемического процесса инфекции в отдельных регионах, среди которых остаются территории с высокой заболеваемостью. По опубликованным данным, в 2010 г. на 24 территориях РФ уровень заболеваемости ГА составил 5–9,9 ‰, на четырех – 10–19,9 ‰, а в Чеченской республике и Республике Тыва – 49,2 ‰ и 137 ‰ соответственно. До настоящего времени во всех регионах сохраняется вспышечная заболеваемость, причем водный путь передачи является ведущим, обуславливая до 62,6 % случаев гепатита А. При сохранении доминирования в структуре заболеваемости детей возраста до 14 лет имеет место возрастающая вовлеченность в эпидемический процесс лиц более старшего возраста. Таким образом, относительно высокий, по сравнению с регионами с низкой эндемичностью, уровень заболеваемости, повсеместное распространение, значительная пораженность работоспособного населения, увеличение доли среднетяжелых и тяжелых форм инфекции, многочисленные вспышки за последние годы свидетельствуют о высокой эпидемиологической и социально-экономической значимости гепатита А для РФ.

Определено наличие 6 генотипов вируса гепатита А (ВГА). Последовательности, имеющие сходство менее 85 %, относят к различным генотипам. Генотипы I, II и III были разделены на 2 субтипа на основании не менее 7,5 % различий их последовательностей. Географически универсально в мире представлен генотип I, который встречается в 80 % всех случаев, а среди его субтипов IA встречается гораздо чаще, чем IB. Последний был выявлен во многих странах различных континентов, и он же является доминирующим у нас в стране.

Генотип III является вторым по распространенности. Его субтип IIIA часто встречается в различных странах всех континентов, широко распространен и даже доминирует в странах Азии – Индии, Малазии, Шри-Ланке, азиатских республиках бывшего СССР, а также в Якутии, Республике Тува. Остальные субтипы, как правило, встречаются гораздо реже.

Целью данного исследования явилось выявление особенностей эпидемического процесса гепатита А в современных условиях и определение генотипической структуры вируса гепатита А в Нижнем Новгороде. Согласно цели ставились следующие задачи:

- на основе многолетних наблюдений за заболеваемостью охарактеризовать динамику проявлений эпидемического процесса гепатита А на территории Н. Новгорода;

- изучить распространенность скрытопротекающего компонента эпидемического процесса гепатита А;

- выбрать оптимальные условия реакции для секвенирования варибельного участка VP1-2A генома для генотипирования ВГА;

- изучить генотипическое разнообразие штаммов ВГА, циркулирующих у населения Н. Новгорода в современных условиях.

Проведен анализ манифестного компонента эпидемического процесса гепатита А, по данным официальной статистики с 1968 г. по 2013 г., и латентного компонента на основе динамического наблюдения за иммуноструктурой населения к вирусу с 1984 г. по 2013 г. В сыворотках крови больных ГА, контактных лиц, условно здорового населения определялись анти-ВГА классов G (IgG) и M (IgM), а также маркеры других вирусных гепатитов методом ИФА.

В сыворотках крови, фекалиях, образцах сточных вод, пробах воды из водопроводной сети и поверхностных водоемов определялось наличие РНК ВГА методом ПЦР с электрофоретической детекцией и в режиме «real time». Для определения генотипа ВГА использовались типоспецифическая ПЦР и лимитированное секвенирование варибельной структурной области VP1-2A генома возбудителя.

При анализе этиологической структуры острых гепатитов в Н. Новгороде установлено, что доля ГА в ней превалирует. Вместе с тем выявлены значительные колебания удельного веса ГА в общей структуре, в разные фазы эпидемического процесса, в годы снижения и подъема заболеваемости.

Официально регистрируемая в Н. Новгороде заболеваемость в 2013 г. по сравнению с 2012 г. возросла в 1,3 раза (в области – в 1,6 раза). В динамике заболеваемости выделяются 2 периода: с 1968 г. по 1993 г., когда диагноз основывался на клинико-эпидемиологических данных, и с 1993 г. по текущий момент, когда для диагностики стали определять анти-ВГА IgM. Первый период характеризовался тенденцией к стабилизации, более короткими периодами между подъемами заболеваемости (4 года), с относительно небольшими ее колебаниями от линии тренда. Особенности второго периода проявились в резких колебаниях уровня заболеваемости – от максимального 182,2 ‰ в 2005 г. до минимального 2,46 ‰ в 2012 г. за период наблюдения, выраженной тенденцией к снижению, в удлинении межэпидемического интервала до 6 лет и падении уровня заболеваемости до ранее недостижимого уровня. Сравнительный анализ показателей заболеваемости в разных возрастных группах выявил «повзреление» инфекции. Этот процесс начался в виде сближения показателя заболеваемости среди детей в возрасте 3–6 и 7–14 лет. Дальнейший сдвиг до настоящего времени сделал наиболее уязвимыми группы детей 15–19 лет и взрослых в возрасте 20–29 лет как в периоды спада, так и подъема заболеваемости.

Динамическое наблюдение за популяционным иммунитетом к ГА установило, что латентный компонент инфекции преобладает над манифест-

ным. Частота выявления анти-ВГА IgG возрастает по мере увеличения возраста. При сохранении иммунологического профиля населения значительно снизилась доля серопозитивных к ВГА лиц в возрастных группах 20–29, 30–39 и 40–49 лет, что привело к смещению регистрируемой заболеваемости манифестными формами ГА в этих возрастных группах.

Отмечается тенденция к росту доли гепатита А как моноинфекции, так и в составе микст-гепатитов, независимо от возраста больных, а также увеличение доли среднетяжелых и тяжелых форм инфекции в годы периодических подъемов заболеваемости.

В 2013 г., по сравнению с 2012 г. значительно повысилось количество серопозитивных к ВГА лиц в индикаторных возрастных группах 1–4 и 5–9 лет. Именно дети этих возрастных групп первыми вступают в очередной эпидемический период, приобретая анти-ВГА, в основном за счет скрытопротекающих форм инфекции. Рост доли иммунных лиц в этих возрастных группах в 2013 г. является показателем активизации циркуляции вируса гепатита А в популяции.

Так же, как и в прежние годы, территорией риска по гепатиту А является заречная часть города, что подтверждается исследованиями, проведенными в 1 квартале 2014 г. по изучению скрытого компонента эпидпроцесса в вышеуказанных индикаторных группах населения, отдельно в заречной и нагорной частях города. Это обосновывает проведение расширенной вакцинопрофилактики, в первую очередь в заречной части.

Генотипирование вируса ГА, выделенного у больных ГА в 2004–2009 гг. методом ПЦР с типоспецифическими праймерами и методом секвенирования региона VP1-2A, выявило преимущественную циркуляцию субтипа IA с единичными определениями субтипов IB и IIIA.

Таким образом, на территории крупного города европейской части России установлены количественные и качественные параметры эпидемического процесса гепатита А в современный период. Официальная заболеваемость, показатели скрытопротекающего компонента эпидемического процесса, низкая иммунная прослойка по отношению к ВГА среди населения Н. Новгорода, с одной стороны, и активизация циркуляции возбудителя, с другой стороны, являются неблагоприятным прогностическим признаком и свидетельствуют о начале в 2014 г. очередного периодического подъема заболеваемости.

Генотипическое разнообразие ВГА в Н. Новгороде представлено тремя субтипами: IA, IB, IIIA, с доминированием субтипа IA. Серологические и молекулярно-генетические методы являются необходимой составляющей эпидемиологического надзора и контроля за гепатитом А и позволяют:

- оценить истинную распространенность инфекции, прогнозировать уровень последующий заболеваемости;

- выявить группы людей, наиболее подверженные риску заболевания;
- оценить степень защищенности населения;
- определить стратегию и тактику вакцинопрофилактики на конкретной территории;
- изучать географическое распространение генотипов ВГА;
- расшифровывать вспышки ГА, проводить поиск общего источника инфекции при групповых заболеваниях, устанавливать связь между случаями заболеваний ГА;
- совершенствовать вирусологический мониторинг водных объектов на основе использования ОТ-ПЦР для индикации ВГА.

УДК 616.932-036.2:312

Зинич Л. С., Хайтович А. Б.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ

*ФГКУЗ «Противочумная станция
Республики Крым» Роспотребнадзора,
Симферополь*

Сравнительный анализ заболеваемости холерой и циркуляции холерных вибрионов O1 группы в объектах окружающей среды по административно-территориальному типу и расположением основных экологических регионов в Украине показал, что территории, на которых регистрировались вспышки, массовые случаи заболевания холерой и ежегодно выделялись культуры холерных вибрионов из объектов окружающей среды, расположены в непосредственной близости друг от друга и относятся к южной и юго-восточной части Украины: Донецкая, Днепропетровская, Запорожская, Херсонская, Николаевская, Одесская области, Республика Крым и г. Севастополь¹. На этих территориях зарегистрировано более 95 % от всех случаев заболеваний и носительства в Украине в течение седьмой пандемии холеры, а количество культур, выделенных из объектов окружающей среды, составило около 89 % от всех культур, выделенных на Украине.

Указанные территории относятся к экологическому региону «понтическая степь», имеют сходную климато-географическую характеристику: низкий среднегодовой уровень осадков (ниже 600 мм/год); относятся к ландшафтной зоне «степная засушливая очень теплая».

Всего на территории Украины идентифицируются 6 основных типов экорегионов с соответствующими климатическими, ландшафтными характеристиками.

¹ С 18.03. 2014 Республика Крым и г. Севастополь вошли в состав Российской Федерации.

ристиками: Центрально-европейские смешанные леса, Европейские лесостепи, Сарматские смешанные леса, Понтическая степь, Карпатский экорегион, Кавказско-Крымские широколиственные леса.

Экологический регион «понтическая степь» в целом охватывает: территории Украины (Одесская, Николаевская, Херсонская, Запорожская, Днепропетровская, Донецкая, Луганская области, Республика Крым и г. Севастополь, юго-восточные части Кировоградской, Харьковской, Полтавской областей); южные территории России (Ростовская, Волгоградская, Саратовская, Оренбургская области; северо-западная часть Астраханской области; южные части Самарской и Воронежской областей; юго-восточные части Белгородской области; северо-западная часть Дагестана; северные части Чеченской, Ингушской республик; северные части Северной Осетии и Карачаево-Черкесии; северо-восточная часть Кабардино-Балкарии, северо-западная часть Калмыкии, Ставропольский край, северная часть Краснодарского края, южная часть Башкортостана), Молдову, юго-восточную часть Румынии, северо-западные части Болгарии и Казахстана.

В указанных административных территориях, относящихся к экологическому региону «понтическая степь», зарегистрировано от 70 % до 98 % от общего количества случаев заболеваний холерой, зарегистрированных в государствах, отмечается высокий уровень заболеваемости холерой и регистрируются вспышки. Так, крупные вспышки холеры происходили в южных областях России (Астраханская обл. – 1970, 1972, 1994 гг.; Ростовская обл. – 1973, 1974, 1975, 1990 гг.; Волгоградская обл. – 1970, 1971, 1972 гг.), Молдавии (1970, 1971, 1972, 1995 гг.), Румынии (1990, 1991, 1994 гг.), Казахстане (Гурьевская обл. – 1970, 1993 гг.) и др. В областях Украины, относящихся к экологическому региону «понтическая степь», заболеваемость холерой составила 6,3 сл. на 100 тыс. населения, что достоверно выше заболеваемости на остальной территории Украины – 1,7 (достоверность 99 %, критерий Стьюдента – 24,2; $p = 0,001$). При этом количество случаев заболеваний холерой во время вспышек в экорегионе «понтическая степь» составила 96,9 % всех случаев заболевания холерой и вибрионосительства в период седьмой пандемии, на остальной территории Украины – 33,33 % (достоверность разности показателей 99 %, критерий Стьюдента – 9,5; $p = 0,001$). В областях, которые не относятся к экорегиону «понтическая степь», в Ивано-Франковской, Черкасской, Черниговской, Винницкой, Волынской, Житомирской, Закарпатской, Львовской, Сумской областях, за период с 1970 по 2005 г. зарегистрированы единичные случаи заболевания холерой, связанные с завозом из других регионов. На этих же территориях выявлялись единичные случаи выделения холерных вибрионов O1 из объектов окружающей среды. В Тернопольской и Хмельницкой областях больные (носители) холерой и случаи выделения

культур из объектов окружающей среды не зарегистрированы.

В соответствии с полученными результатами сравнительного анализа циркуляции холерных вибрионов O1 серогруппы в Украине среди людей и в окружающей среде, на территориях России, Казахстана, Румынии, Болгарии, Молдовы установлена зависимость между климато-географическими условиями различных регионов и частотой встречаемости возбудителя холеры.

На эпидемический процесс холеры в этих регионах, кроме других факторов, значительное влияние может оказывать принадлежность к экологическому региону «понтическая степь». Заболеваемость в указанных территориях Украины достоверно выше заболеваемости на остальной территории и носит преимущественно вспышечный характер.

Изучение экологических особенностей холеры в Украине установило, что циркуляция холерных вибрионов в объектах окружающей среды в основном происходит параллельно с заболеваемостью холерой. В годы эпидемических осложнений отмечается широкая циркуляция $ctx+$ штаммов на территориях, где регистрировалась заболеваемость холерой. Редко обнаруживаются в объектах окружающей среды штаммы, содержащие гены tcr и $toxR$, которые способны вызвать нетяжелые клинические проявления холеры и со сниженным эпидемическим потенциалом. Широко циркулируют штаммы, содержащие $toxR$ -ген, которые являются эпидемически не опасными и не имеют клинического значения.

Эпидемически опасные холерные вибрионы чаще изолируются из экосистем, связанных с жизнедеятельностью людей, – смывах в очаге, сточной воде.

При изучении генов патогенности (ctx , tcr) и гена, координирующего экспрессию генов патогенности $toxR$ у некоторых штаммов из объектов окружающей среды, определено, что циркулировали штаммы, имеющие сочетания генов tcr и $toxR$ и содержали только ген экспрессии – $toxR$. Штаммы, обладающие геном вирулентности tcr и $toxR$ геном, были выделены только в Крыму, Донецкой, Луганской, Запорожской и Днепропетровской областях, где при реализации эпидемического потенциала возбудителя могли произойти групповые заболевания с легким клиническим течением, или так называемая вспышка вибрионосительства.

На основании полученных результатов можно предположить, что для сохранения жизнеспособности популяции холерных вибрионов O1 не обязательно наличие генов вирулентности и при попадании в объекты окружающей среды в условиях Украины штаммы утрачивают ctx , tcr гены и могут длительное время существовать в объектах окружающей среды, т. е. являться сапронозами.

Таким образом, сравнительный анализ циркуляции холерных вибрионов O1 серогруппы в различных климато-географических условиях Украины,

проведенный с помощью ГИС-технологий, установил зависимость между климато-географическими условиями различных регионов и частотой встречаемости возбудителя холеры. Наиболее высокий уровень заболеваемости и частоты обнаружения холерных вибрионов O1 группы в объектах окружающей среды отмечается в территориях Украины, которые относятся к экологическому региону «понтонская степь». Постоянная циркуляция холерных вибрионов O1 в объектах окружающей среды обуславливает воздействие на них комплекса факторов и наличие определенных параметров существования. На основании экспериментальных данных определено, что более широкий диапазон экологической пластичности обнаружен у нетоксигенных штаммов в сравнении с токсигенными. Оптимальными параметрами для сохранения стх-гена является 0,9 % раствор NaCl с рН не менее 7,0. При рН, равной 6 и 10, а также в условиях морской воды стх - ген не был обнаружен.

Особенности эпидемического процесса холеры, связанные с влиянием экологических факторов необходимо учитывать при определении территорий риска возникновения эпидемических осложнений по холере и использовать для дифференцировки исследований при проведении и коррекции объема эпидемиологического надзора.

УДК 616.988:616-036.22

Иванова А. В.

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ
АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЙ
ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ
С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ
В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

*ФКУЗ Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора,
Саратов*

В мире ежегодно регистрируется около 200 тыс. случаев заболеваний геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС), из которых основная масса заболеваний зарегистрирована в Китае; на втором месте по уровню заболеваемости стоит Россия. Особенно актуальна проблема ГЛПС в Республике Башкортостан. Природный очаг ГЛПС на территории Республики Башкортостан считается самым активным и крупным в Российской Федерации. В среднем на территории республики регистрируется около 2 тыс. больных ежегодно.

Проведенный анализ многолетней динамики проявлений ГЛПС с 1980 по 2013 г. в Республике Башкортостан выявил, что заболевания ГЛПС на

территории республики регистрировались ежегодно, причем динамика характеризовалась определенной периодичностью подъемов и спадов заболеваемости. За последние 10 лет отмечено 4 наиболее выраженных подъема заболеваемости ГЛПС в 2004, 2006, 2008 и 2009 годах. Возможными причинами описанных резких подъемов заболеваемости многие авторы считают климатические условия, благоприятные для размножения грызунов в годы подъема их численности.

В ходе собственных исследований нами были проанализированы наличие и характер корреляционных связей между численностью грызунов, климатическими условиями и количеством заболевших людей. Для этого были собраны и упорядочены в виде таблицы данные о больных ГЛПС в Республике Башкортостан с 2001 по 2012 г. Полный набор ежедневных климатических данных. Информация о численности и инфицированности грызунов.

В нашем исследовании мы подвергли проверке следующие рабочие гипотезы: влияние средних максимальных и минимальных температур отдельных месяцев и сроков установления снежного покрова на эпизоотические показатели.

Проведенный анализ позволил выявить, что за выбранный период времени отмечалось снижение процента инфицированности грызунов в год с самыми высокими минимальными температурами апреля и августа. Также было установлено, что раннее установление снежного покрова (октябрь) способствует увеличению инфицированности грызунов в следующем году.

Обнаружилась статистическая связь максимальных температур января с количеством отловленных грызунов. Холодный январь в течение анализируемого периода ассоциировался с низкой численностью грызунов. Выяснилось, что при прогнозировании численности грызунов на следующий год значение имеет максимальная температура ноября, которая оказывает положительное влияние на численность грызунов в следующем году.

Таким образом, между отдельными исследованными климатическими и эпизоотическими показателями наблюдается определенная взаимосвязь, однако сила этой связи не является достаточной для использования только климатических критериев при оценке эпизоотической и эпидемиологической активности природного очага ГЛПС. По-видимому, это связано с недостаточным объемом имеющихся данных, что определяет необходимость дальнейших исследований.

Имеющуюся информацию о месте заражения и проживания каждого, заболевшего ГЛПС с 2009 по 2011 г., нанесли на электронную карту республики. В итоге на административной карте Республики Башкортостан отмечен каждый случай заболевания ГЛПС с 2009 по 2011 г.

При помощи ГИС определили, что эти точки расположены неравномерно. В геоинформационной системе нами была построена карта плотности

мест заражения ГЛПС, в которой места с наибольшим скоплением фактов заражения показывают вероятность вовлечения жителей в эпидемический процесс.

При этом были выявлены не только очаги эпидемических проявлений в пределах административных районов республики, но и выделены наиболее опасные, связанные с риском заражения ГЛПС населенные пункты.

При анализе территории риска в разрезе административных районов выявлено, что административные районы республики подвержены неоднородному риску по заболеваемости ГЛПС. Кроме того, установленные места заражений были сопоставлены с ландшафтной картой Республики Башкортостан. Распределение мест заражений по ландшафтными зонам также оказалось неравномерным. Наиболее пораженными ландшафтными зонами оказались: лесостепная зона, на долю которой пришлось 56,7 % от всех случаев заболевания; зона пойменных лугов и лесов – 24,3 % и лесная зона – 16,1 %.

В результате проведенной работы установлена определенная взаимосвязь между отдельными климатическими и эпизоотическими показателями, позволяющая при дальнейшем ее исследовании использовать данные критерии для оценки эпизоотической и эпидемиологической активности природного очага ГЛПС, а также выявлены административные районы и населенные пункты республики, максимально и минимально подверженные риску заражения ГЛПС.

УДК 616.92.93(471)

Киреев Ю. Г., Балахнова В. В., Алиева А. А.

АКТУАЛЬНОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ АНАМНЕСТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ЛИХОРАДКОЙ ЗАПАДНОГО НИЛА

*ФКУЗ «Северо-Кавказская ПЧС»
Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону*

В настоящее время одной из актуальных природно-очаговых инфекций для ряда регионов Российской Федерации является лихорадка Западного Нила (ЛЗН), вызываемая нейротропным флавивирусом.

В природе вирус Западного Нила (ЗН) поддерживается в энзоотичном цикле, включающем взаимную передачу вируса между птицами и комарами, однако в этот цикл в результате укусов инфицированных комаров могут также включаться люди и различные млекопитающие. В отдельных случаях инфицирование людей происходит при

переливании крови, трансплантации органов и др.

Примерно у 80 % инфицированных людей ЛЗН протекает бессимптомно, у части больных (преимущественно старше 50 лет и с ослабленным иммунитетом) развиваются симптомы тяжелой нейроинвазивной формы болезни, характеризующейся поражением центральной нервной системы.

По своим природно-климатическим факторам, ландшафтно-географическим зонам на территории Ростовской области присутствуют экосистемы, необходимые для формирования стойкого природного очага ЛЗН, а именно: поймы и дельты рек, часто затопляемые территории, где идет гнездование диких перелетных водоплавающих птиц – основных носителей и резервуара вируса в природе. Также в области широко распространены потенциальные переносчики вируса ЛЗН – орнитофильные комары.

Практически повсеместное распространение вируса Западного Нила ставит перед отечественным здравоохранением задачу по совершенствованию эпидемиологического надзора за этой инфекцией. В связи с отсутствием специфических лечебных препаратов и эффективной вакцины против вируса ЗН эпидемиологическое благополучие территории целиком и полностью зависит от разработки всесторонних комплексных программ по эпидемиологическому надзору и борьбе с комарами в регионах, где циркулирует этот вирус.

В последнее десятилетие в связи с потеплением климата, антропогенной трансформацией ландшафтов в Ростовской области, ростом техногенного влияния на территории природных очагов наблюдалось постоянное увеличение случаев заболевания лихорадкой Западного Нила.

Но отличительные особенности имела эпидемическая ситуация по ЛЗН в сезон 2013 г. Наблюдалось снижение общего количества случаев заболевания почти в 4 раза. Данному явлению в основном способствовали климатические особенности весеннего и летнего периодов, отрицательно повлиявшие на численность кровососущих членистоногих.

Климатический прогноз, представленный Росгидрометом, свидетельствует о том, что на территории Ростовской области будет сохраняться тенденция к потеплению, тем самым способствуя дальнейшему повышению эпидемического потенциала природных очагов лихорадки Западного Нила.

Одним из аспектов комплексного эпидемиологического надзора и критерием оценки состояния природного очага арбовирусной инфекции является скрининговое исследование сывороток крови здоровых людей, проживающих на территории очага.

Так, сотрудниками ФКУЗ «Северо-Кавказская ПЧС» Роспотребнадзора с 2008 г. проводилось изучение сывороток крови здоровых людей (доноров) на наличие антител к вирусу ЗН среди населения обследуемых районов Ростовской области

– Сальского, Октябрьского, Каменского и города Таганрога.

Скрининг сывороток крови доноров на присутствие специфических антител проводили с помощью твердофазного ИФА, с использованием тест-систем «БиоСкрин – ВЗН (IgM)» («Биосервис», Москва).

За время наблюдений установлено, что в 2008 г. процент положительных проб составлял 2,4 % от числа исследуемых сывороток крови; 2009 г. – 3,5 %; 2010 г. – 3,75 %; 2011 г. – 3,6 %; 2012 г. – 6,5 %; 2013 г. – 0,96 %; за первое полугодие 2014 г. выявлено 8,5 % положительных проб. Проведённые исследования выявили тенденцию к повышению уровня иммунной прослойки среди обследуемых доноров. Резкое увеличение положительных результатов в 2014 г. соответствует прогнозу повышения заболеваемости, составленному Референс-центром по мониторингу за возбудителем ЛЗН.

Выявленные анамнестические антитела свидетельствуют о перенесенном ранее заболевании в бессимптомной или легкой форме, что характерно для «здоровой» части населения – доноров. Обнаружение специфических антител подтверждает циркуляцию вируса на территории области и активный контакт с ним населения. Результаты данного мониторинга подтверждают наличие на территории Ростовской области активного природного очага лихорадки Западного Нила.

Проведенные в первой половине 2014 г. исследования свидетельствуют о повышении активности природного очага в связи с хозяйственной деятельностью человека и расширением контактов населения с экосистемами, что указывает на необходимость разработки и внедрения новой комплексной стратегии профилактики арбовирусных инфекций, передаваемых комарами. Основным инструментом этой стратегии должна являться своевременная дезинсекционная противокосмоарная обработка, призванная прервать циркуляцию вируса в биоценозе.

Подобные исследования, имеющие большое значение для комплексного эпидемиологического надзора, будут продолжены и в дальнейшем.

УДК [576.895.42:616.98 – 036.22] – 07(571.620 – 25) «2014»

Кириллова А. В.

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕЩЕЙ НА НАЛИЧИЕ ДНК *BORRELIA BURGdorferi sensu lato*, *ANAPLASMA PHAGOCITOPHILUM*, *ERLICHIA MURIS* МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2014 ГОДА

ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора», Хабаровск

В работе представлена сезонная динамика инфицирования напитавшихся и живых иксодовых клещей боррелиями комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, а также эрлихиями семейства *Anaplasma* – *Erlischia muris*, *Anaplasma phagocitophilum*. На основании исследований методом ПЦР 545 особей переносчиков инфекции сделан вывод о наиболее эпидемически значимых в отношении иксодового клещевого боррелиоза месяцах – мае и июне. В целом уровень инфицирования иксодовых клещей боррелиями составил 27,3 %, эрлихиями и анаплазмами – 2,9 % и 13,1 % соответственно.

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), или болезнь Лайма, – инфекционное заболевание, занимающее по широте распространения одно из ведущих мест среди природно-очаговых болезней с трансмиссивным механизмом заражения. Болезнь Лайма характеризуется повреждением нервной и сердечно-сосудистой систем, опорно-двигательного аппарата и кожных покровов.

Возбудителями ИКБ являются боррелии, относящиеся к комплексу *Borrelia burgdorferi sensu lato*, объединяющему 12 геновидов боррелий. Для человека патогенны три геновида: *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. В зависимости от геновидов боррелий клиническая картина у инфицированных людей различна. Инфекции, вызванные *Borrelia garinii*, характеризуются неврологической симптоматикой, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* – Лайм-артритом, а *Borrelia afzelii* – хроническим атрофическим дерматитом.

Эрлихиозы человека – природно-очаговые инфекционные болезни, возбудители которых передаются иксодовыми клещами. Различают два заболевания, возбудителями которых являются: *Erlischia muris* – моноцитарный эрлихиоз (МЭЧ) (поражающий моноциты) и *Anaplasma phagocitophilum* – возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза (ГАЧ) (поражающий нейтрофилы).

Возбудители ГАЧ и МЭЧ относятся к семейству *Anaplasma*, роду *Erlischia*. Возбудители локализуется в цитоплазматических вакуолях

зрелых нейтрофилов. Для обоих возбудителей типично развитие общеинфекционных симптомов: лихорадка в течение 4–8 дней, озноб, профузного пота, сильной головной боли, недомогания; возможны мышечные боли, артралгии, кашель, боль в животе, тошнота, диарея, безжелтушный гепатит с умеренными трансаминазами, поражение почек.

На юге Хабаровского края функционируют сопряженные очаги клещевых трансмиссивных инфекций (ИКБ, клещевого энцефалита (КЭ), МЭЧ, ГАЧ). Единый вектор передачи возбудителей – иксодовые клещи, преимущественно – таежный клещ *Ixodes persulcatus*, а также – *Dermacentor silvarum*, представители которого, в связи с экологическими особенностями вида, преобладают в первый месяц активности клещей. В Хабаровском крае основное эпидемиологическое значение имеют таежные клещи *Ixodes persulcatus*. Возбудители проникают в организм человека со слюной инфицированных взрослых клещей, их личинок или нимф во время кровососания.

Для установления диагноза ИКБ, МЭЧ и ГАЧ используются как микроскопические, так и серологические методы лабораторных исследований. Однако метод идентификации боррелий в кишечнике клеща не всегда эффективен, так как является трудоёмким и не обладает достаточной чувствительностью. В свою очередь, серологические тесты не обладают необходимой информативностью на ранних этапах диагностирования инфекции, в связи с поздним развитием иммунного ответа после инфицирования боррелиями, эрлихиями и анаплазмами.

Внедрение ПЦР для обнаружения ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato* в инфицированных клещах позволяет определить наличие данного инфекционного агента на ранних этапах заражения, с чувствительностью около 95 % и возможностью исследования переносчика в любом состоянии.

Таким образом, ПЦР является лучшим из доступных методов для ранней диагностики болезни Лайма у человека, вызванной *Borrelia burgdorferi sensu lato*, что позволяет определить вероятность болезни у пострадавшего человека и может послужить основанием для назначения экстренной превентивной антибиотикотерапии в первые 5 дней с момента присасывания клеща. Кроме того, наличие в анамнезе пациента факта нападения клеща, зараженного боррелиями, может способствовать постановке правильного диагноза болезни и её лечению в случае обращения пострадавшего за помощью при ухудшении самочувствия.

Целью настоящей работы явилось получение данных о частоте выявляемости боррелий и эрлихий в клещах рода *Ixodes* в разные периоды их активности в эпидемический сезон 2014 г. Получение этой информации представляет как научный, так и практический интерес и будет способствовать улучшению эпидемиологического контроля за ИКБ, МЭЧ и ГАЧ.

508 иксодовых клещей, снятых с жителей, проживающих в Хабаровском крае, и 37, снятых с растительности в пригороде г. Хабаровска, подверглись молекулярно-генетическому анализу на наличие ДНК *Borrelia burgdorferi*, *Erlchia Muris*, *Anaplasma phagocitophilum* и составили основу данного исследования.

Для выделения суммарной нуклеиновой кислоты (НК) из клещей в микропробирку с насекомым добавляли 300 мкл 70 % этанола и перемешивали в течение 10–15 с. Далее клеща растирали с помощью роторно-статорного гомогенизатора в 300 мкл буферного раствора. После встряхивания пробирки частицы хитинового покрова осаждали коротким центрифугированием и получали надосадочную жидкость (суспензию органов и мягких тканей клеща).

Определение ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Erlchia Muris*, *Anaplasma phagocitophilum* было осуществлено на амплификаторе с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «iQ5 iCycler» («Bio-Rad», США), с использованием коммерческих тест-систем «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi s.l.*» и «РеалБест ДНК *Anaplasma phagocitophilum/Erlchia Muris, Erlchia chaffensis*» производства ОАО «Вектор-бест» (п. Кольцово, Новосибирская область). Для исследований использовали по 100 мкл фракции суммарной НК, выделенной из 545 напитавшихся и живых клещей.

В апреле 2014 г. генерация клещей была полностью представлена перезимовавшими особями, их зараженность боррелиями составила 23,6 % (50/212). В мае наблюдался рост числа обратившихся по поводу присасывания клещей; среди исследованных экземпляров клещей инфицированными оказались 29,4 % (64/214). В этом же месяце наблюдался самый высокий процент выявляемости ДНК боррелий в клещах. В июне процент составил 28,7 % (27/94). В связи с погодными условиями 2014 г. в июле произошло резкое снижение числа людей, обратившихся после присасывания клещей.

Следует отметить, что клещи, содержащие ДНК боррелий, доставлялись после присасывания к жителям г. Хабаровска, посещавшим хвойно-широколиственные леса пригорода. В целом уровень инфицированности напитавшихся клещей боррелиями составил 27,5 % (138/508), в то время как живые клещи, собранные с растительности на юге Хабаровского края, инфицированы на 29,7 % (11/37). Диапазон инфицированности за 2011–2013 гг. колебался от 27 до 33 %. В ходе исследования выявлены клещи, одновременно инфицированные боррелиями и анаплазмами. Как анаплазмы, так и эрлихии в клещах были выявлены в мае и июне.

Полученные данные показали наличие *Borrelia burgdorferi sensu lato* в клещах рода *Ixodes* в течение 3 месяцев 2014 г. (с апреля по июнь). Наибольшее число инфицированных особей выявлено в мае

и составило 29,4 % (64/214). Пик инфицирования иксодовых клещей боррелиями пришелся на III декаду мая – I декаду июня, что совпадает с пиком численности иксодовых клещей в хвойно-широколиственных лесах на юге Хабаровского края. В целом 27,5 % иксодовых клещей в сезон их активности были заражены боррелиями. Как следует из представленных данных, наибольшему риску заражения иксодовым клещевым боррелиозом подвержены лица, отмечавшие присасывание клеща в мае или июне. Факт выявления в клещах микст-инфекции свидетельствует о наличии на территории Хабаровска и его пригорода сопряженных природных очагов. Лицам, удалившим инфицированного клеща, рекомендуется назначение экстренной превентивной антибиотикотерапии в первые 5 дней с момента присасывания клеща.

УДК 616-036.22:616.98:579.852.11

**Коваленко И. С., Павленко А. Л.,
Зинич Л. С., Хайтович А. Б.**

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА СИБИРСКОЙ ЯЗВОЙ

*ФГКУЗ Противочумная станция Республики
Крым Роспотребнадзора,
Симферополь*

Основными общепринятыми элементами эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекционными болезнями является изучение характеристики природных очагов (их биоэкологическая и пространственная структура), закономерности динамики эпидемического/эпизоотического процессов, факторов, на них влияющих.

Учитывая постоянно изменяющиеся социально-экономические условия жизни населения, действие ряда факторов природного и антропогенного характера, особое значение в эпиднадзоре за сибирской язвой имеют выявление предпосылок и предвестников возможного осложнения эпидемической/эпизоотической ситуации, получение и оценка объективной информации о возможностях и условиях реализации механизмов передачи возбудителя и возможном риске для здоровья человека (животных).

Оценка возможных эпидемических/эпизоотических осложнений (идентификация эпидемического/эпизоотического процесса) должна быть своевременной, т. е. в самом начале проявлений, для быстрого проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Отправной точкой проведения эпидемиологического надзора за сибирской язвой является ретроспективный анализ активности природных очагов инфекции, состояния стационарно-

неблагополучных пунктов, заболеваемости людей и животных.

Основными этапами эпидемиологического надзора за сибирской язвой на конкретной территории являются: сбор и учет статистических данных, эпиданализ и оценка данных проявлений эпидемического/эпизоотического процесса, пространственный анализ, разработка управленческих решений и выдача рекомендаций по корректировке осуществляемых мероприятий, оценка эффективности проводимых мероприятий.

Результаты, полученные при ретроспективном анализе, дают возможность прогнозирования развития эпидемиологической ситуации, на основе которых разрабатывается система принятия адекватных сложившейся ситуации управленческих решений для создания корректной системы противоэпидемических мероприятий, что, в свою очередь, позволяет усовершенствовать систему эпидемиологического/эпизоотологического надзора.

Уровень изученности закономерностей эпидпроцесса при этом алгоритме оценки эпидемической ситуации за сибирской язвой и мерах по ее профилактике, как правило, достаточен для оперативного реагирования в случаях заболевания людей/животных.

Однако разработка более эффективной системы эпидемиологического/эпизоотологического надзора за сибирской язвой должна быть направлена на предупреждение возникновения масштабных эпидемических осложнений, для чего требуется использовать дополнительные этапы проведения анализа, основанные на определении опасности (угрозы) предположительной или реальной, с последующей оценкой потенциального риска и учитывать большее количество анализируемых параметров.

Максимально эффективная система эпидемиологического/эпизоотологического надзора за сибирской язвой должна включать помимо указанных этапов:

1. Систему прогнозирования – выявление факторов, изменение которых может повлиять на возникновение, распространение и изменение активности стационарно неблагополучного по сибирской язве пункта. Для определения перечня факторов можно использовать мета-анализ литературных данных по ранее проведенным научным мировым и отечественным исследованиям, по описанию причин вспышек и роста заболеваемости людей и животных, а также результатов ретроспективного анализа для территории, подлежащей оценке. Список факторов должен быть не окончательным, а подлежать пересмотру, уточнению и дополнению.

К таким факторам можно отнести изменения как природного, так и антропогенного характера:

- физико-географические изменения территории – изменения температуры, количества осадков, структуры поверхности (под влиянием при-

родных факторов), не характерные для области мониторинга;

- антропогенное преобразование естественных ландшафтов – проведение различного вида строительных мероприятий, рытье котлованов, прокладка кабелей, трубопроводов и др., что может привести к эпидемическим (эпизоотическим) изменениям;

- социально-экономические преобразования – изменение демографической структуры, экономических показателей и др.;

- ЧС техногенного и не техногенного характера (включая военные действия).

Указанные факторы могут оказывать существенное влияние на пространственное распределение сибирской язвы по территории.

2. Оценку и определение опасности (потенциальный риск) и угрозы (реальной возможности реализации риска).

К основным опасностям, возникновение которых возможно под влиянием вышеуказанных факторов, относятся:

- изменение уровня грунтовых вод – может произойти при физико-географических изменениях территории (увеличение количества осадков, превышающее допустимую норму);

- антропогенное преобразование территории (изменение структуры может привести к подтоплению территории);

- горизонтальное/вертикальное перемещение верхних слоев почвы – может произойти как под влиянием природных (оползни, как следствие ливней), так и антропогенных (рытье котлованов, прокладка трубопроводов и других агромероприятий и строительных работ, мероприятий, а также вертикальное и горизонтальное перемещение верхних плодородных слоев почвы на новые территории) факторов;

- изменение состава почв – может произойти под действием антропогенных факторов (строительство искусственных водоемов и систем орошения);

- вторжение человека/животных в почвенные очаги – современная урбанизация и расширение осваиваемых территорий может быть причиной данной опасности;

- снижение контроля, завоз патогена, а также отсутствие/утрата базисных данных – причиной данных типов опасности являются социально-экономические изменения.

К основным угрозам при сибирской язве можно отнести ЧС техногенного (в том числе военные действия) и не техногенного характера, приводящие к изменению уровня жизни населения.

3. Определение риска для здоровья человека/животных, т.е. вероятности нежелательного события, связанного с конкретной опасностью или угрозой, так как не каждая опасность или угроза может стать риском для здоровья людей:

- вынос спор сибирской язвы на поверхность почвы (может происходить под действием факто-

ров как природного, так и антропогенного характера);

- качественные и количественные изменения возбудителя. В почве при наличии благоприятных факторов (достаточное количество органических веществ, pH, t° и т.д.) может происходить не только длительное сохранение спор (споры только сохраняют свой инфекционный потенциал в почве, т.е. почва выступает как фактор передачи), но и переход их в вегетативную форму с последующим размножением (происходит накопление возбудителя, и почва выступает как источник инфекции);

- распространение на новые территории – опасности, связанные с перемещением почвенных слоев, могут в конкретных условиях стать причиной возникновения (увеличения) риска перемещения возбудителя сибирской язвы. Однако немаловажным аспектом возникновения этого риска являются опасности снижения контроля и завоз непроверенной продукции животного происхождения на новые территории, а также различные террористические акты, приводящие к риску распространения патогена на достаточно большую по площади территорию.

Отражением наличия невыявленных и неучтенных рисков при эпидемиологическом надзоре является возникновение случаев заболевания среди людей и животных, необычного для данной территории уровня.

Все предположения и данные по определению и оценке как реального, так и потенциального риска должны стать неотъемлемой частью при сборе данных (первом этапе эпиднадзора) и учитываться при оценке уровня этого риска.

Дополнительные этапы оценки эпидемической ситуации при сибирской язве необходимо инициировать при регистрации или планировании изменения условий, что особенно важно при выявлении факторов, которые могут стать причиной опасности или угрозы (планирование строительства, проведение мелиоративных работ, разработка путей перегона скота, изменения социально-политического строя, получение прогнозов возможно резкого изменения погодных условий и др.).

Оценка эпидемической ситуации при сибирской язве не может иметь строгих временных рамок (например – один раз в месяц или ежедневно), т.к. при частом проведении оценки будет необоснованно задействован профессиональный ресурс специалистов, а при четком определении сроков – могут быть пропущены предвестники изменения ситуации. Необходимо также акцентировать внимание на том, что своевременное проведение оценки эпидемиологической ситуации при сибирской язве во многом будет зависеть от квалификационного уровня специалистов и заинтересованности в раннем выявлении факторов, способствующих изменению эпидемической ситуации.

Таким образом, при проведении эпидемиологического надзора за сибирской язвой необходимо

димо системно рассматривать эпидемический и эпизоотический процессы не только во взаимосвязи и с учетом природных, социальных и других факторов, фактически оказывающих влияние на качественные и количественные изменения, но необходимо акцентировать внимание на разработку прогноза ситуации при регистрации изменения каких-либо из этих факторов, чтобы предупредить ее осложнение, т. е. эпиднадзор должен быть направлен на своевременную идентификацию причины появления (активизации) эпидемического/эпизоотического процесса и оценку возможных и существующих рисков.

УДК 614.449.57

Криворотова Е. Ю.

ОЦЕНКА ЭНТОМОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ДИРОФИЛЯРИОЗУ

ФБУН Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

В последние годы во многих странах мира, в том числе и в Российской Федерации, наблюдается тенденция к росту заболеваемости человека дирофиляриозом (Pampiglione S., Rivasi F., 2000, Akaio N., 2011, Сергиев В. П. и др., 2012 и др.). Юг России в силу благоприятных климатических условий считается зоной, эндемичной по дирофиляриозу, на многих территориях которой выявлен высокий уровень зараженности собак этим гельминтозом (Бескровная Ю. Г., 2009, Винокурова Д. П., 2011, Архипов И. А., Архипова Д. Р., 2004 и др.)

Для оценки эпидемической обстановки по дирофиляриозу можно использовать:

1) Критерии, применяемые для расчета эпидемиологической обстановки по малярии:

- сезон эффективной заражаемости комаров – период времени, в течение которого температурные условия допускают развитие личинок в теле комара до инвазионной стадии (L3);

- сезон передачи дирофиляриоза – период времени, в течение которого происходит (или может происходить) передача дирофилярий окончательным хозяевам (собаки, кошки и другие животные отрядов хищные и виверовые) или человеку через укусы инфицированных комаров.

2) Энтомологический мониторинг филяриатозов (ксеномониторинг) – оценка распределения векторов и/или патогенов на определенной территории.

1. Переносчики дирофиляриоза

Промежуточные хозяева дирофилярий – комары семейства Culicidae, роды *Anopheles*, *Aedimorphus*,

Armigeres, *Ochlerotatus*, *Aedes*, *Culex*, *Coquillettidia* и *Mansonia* (Becker N. et al., 2010). Считается, что около 70 видов комаров способны поддерживать развитие личинок *Dirofilaria immitis* до стадии L3 (Ludlam K. W., 1970, Otto and Jachowski, 1981). Определенные виды комаров играют разные роли в передаче инфекций в различных регионах мира. Наиболее значимые переносчики филярий в Европе: *Ae. vexans*, *Cx. pipiens pipiens* и *Ae. albopictus* (Becker N. et al., 2010). Для того чтобы вид комаров мог выступать в качестве вектора при дирофиляриозе, он должен поддерживать развитие паразита до инфекционной стадии L3. Присутствие личинок стадий L1 – L2 в организме комара не доказывает его компетентности как вектора (Scoles G., 1994). В результате фактические векторы передачи дирофиляриоза во многих регионах мира остаются неизвестными. Экзотические виды комаров расселяются на новые географические площади, что увеличивает число потенциальных векторов инфекции в данном регионе. В качестве потенциальных переносчиков дирофиляриоза, имеющих высокий адаптационный потенциал и быстро расширяющих ареал своего распространения, можно рассматривать *Ae. albopictus* и *Ae. aegypti*.

2. Определение начала эффективной заражаемости комаров и начала сезона передачи дирофиляриоза

Сроки начала и конца сезонов эффективной заражаемости комаров и передачи дирофиляриоза необходимо рассчитывать ежегодно, так как они существенно меняются в зависимости от погодных условий каждого года.

Для развития возбудителей дирофиляриоза (*Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*) в теле комара необходима температура воздуха +14°C и выше. При температуре ниже +14°C развитие возбудителей в теле комара останавливается.

За начало сезона эффективной заражаемости комаров принимается дата, с которой устанавливаются среднесуточные температуры воздуха +14°C и выше. Необходимо помнить, что эндофильные самки комаров переваривают кровь в помещениях (жилых или для скота), в которых температура обычно выше, чем температура наружного воздуха, поэтому делается поправка на температуру дневок.

Определение периода передачи дирофиляриоза человеку проводят ретроспективно, на основе среднесуточных температур воздуха, зарегистрированных на определенной территории. Расчет начинают со дня, когда установилась среднесуточная температура воздуха +14°C (0 единиц развития), ниже которой личинки *Dirofilaria* в комарах не развиваются. При температуре, превышающей порог (+14°C), накапливаются единицы развития дирофилярий (ЕРД). Для развития личинок дирофилярий в комаре до инвазионной стадии необходима сумма эффективных температур в 130 ЕРД. Необходимо учитывать, что 130 ЕРД должны накопиться в срок, не превышающий 30 дней, т. к.

считается, что зараженные комары в дикой природе живут не более месяца. В случае если накопление 130 ЕДР происходит в срок, превышающий 30 дней, необходимо сдвигать дату начала накопления суммы эффективных температур на более позднее число. Если при наборе суммы единиц развития личинок дирофилярий (130 ЕДР) попадают дни со среднесуточной температурой воздуха +14°C и ниже, то эти дни опускаются (0 ЕДР), а суммирование производится по последующим благоприятным дням. При понижении температур на длительное время (более 10 дней) расчет инкубации генераций личинок начинают заново – после прекращения холодов и установления температуры воздуха выше пороговой.

Для расчета ЕДР можно использовать формулу:

$$E_{DP} = \begin{cases} \left(\frac{T_{min} + T_{max}}{2} \right) - 14 & \text{если } (T_{min} + T_{max})/2 > 14 \\ 0 & \text{если } (T_{min} + T_{max})/2 \leq 14, \end{cases}$$

где E_{DP} – единицы развития дирофилярий;

T_{min} – минимальная и T_{max} – максимальная дневные температуры.

Примечание. Для отрицательной величины ЕДР устанавливается значение ноль.

Наибольшее значение в передаче дирофиляриоза имеют самки комаров первой генерации. Для перезимовавших самок расчет начала сезона передачи дирофиляриоза начинают с установленной даты сезона эффективной заражаемости комаров, хотя до эпидемически значимого возраста эти самки фактически не доживают.

3. Определение окончания сезона эффективной заражаемости комаров

и окончания сезона передачи дирофиляриоза

Для определения конца эффективной заражаемости комаров производят расчет даты окончания развития последней возможной генерации личинок в комаре в текущем году. Для этого в зависимости от продолжительности теплого периода устанавливают последний день со среднесуточной температурой воздуха не ниже +15°C (кратковременные потепления после длительного похолодания не учитываются). От этой даты в обратном порядке ведут расчет последнего цикла развития личинок дирофилярий в комарах. Дата, на которую приходится сумма в 130 ЕДР, считается датой окончания сезона эффективной заражаемости комаров.

В континентальном климате передача трансмиссивных болезней не может осуществляться круглогодично: в зимний период отсутствуют условия для развития переносчиков и возбудителей в векторах трансмиссии. В России зимой на большей части территории страны низкие среднесуточные температуры воздуха окружающей среды (значительно ниже пороговой температуры развития личинок дирофилярий в переносчике: +14°C) сохраняются длительный период времени. Риск заражения дирофиляриозом в это время года минимален, однако возможно внутридомовое за-

ражение данным гельминтозом при помощи «подвальных» комаров.

За окончание сезона передачи дирофиляриоза принимается дата исчезновения последних самок с кровью на дневках.

В настоящий момент в ряде неблагоустроенных многоквартирных домов передача инвазии при наличии зараженного дирофиляриозом окончателюного хозяина может осуществляться круглогодично «подвальными» комарами рода *Culex* (*C. p. molestus*). Самки *C. p. molestus* автогенны, поэтому популяция подвальных комаров может поддерживаться длительное время и без питания кровью. Второй гонотрофический цикл самки этого вида комаров могут проделывать только после приема порции крови. В результате этого возникает эпидемическая опасность в отношении круглогодичной внутридомовой передачи инвазии дирофилярий человеку.

4. Ксеномониторинг дирофиляриоза

Ксеномониторинг дирофиляриоза целесообразно проводить для комаров родов *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, т. к. они считаются основными переносчиками дирофиляриоза в России. Классическое лабораторное исследование комаров на наличие микрофилярий основано на микроскопии вскрытых окрашенных самок. Методика вскрытия комаров описана в МУ 3.1.3012 – 12 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней». Препараты вскрытых самок перед микроскопией можно зафиксировать и окрасить по Романовскому-Гимза, что облегчит нахождение личинок в препаратах. Обработка напитанных кровью комаров после вскрытия гемолизирующими растворами (для этой цели можно использовать 3 % уксусную кислоту) способствует повышению качества препарата для микроскопического исследования.

Детекция микрофилярий в комарах, основанная на микроскопии вскрытых самок, занимает много времени, трудоемка и малоприменима при больших эпидемиологических исследованиях (Voskarie M. J., 2007). В последние годы для ксеномониторинга дирофиляриоза применяются молекулярно-биологические методы исследования комаров (Nicolas L, 1997). Использование метода ПЦР может привести к быстрому высокопроизводительному скринингу возбудителей трансмиссивных заболеваний у комаров-переносчиков.

УДК 616.9-036:595.122.2

Кряжева Е. С., Фаттахов Р. Г.

**ЗАРАЖЕННОСТЬ
ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ
ЛИЧИНКАМИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ОПИСТОРХОЗА И МЕТОРХОЗА
В РЕКЕ ИРЮМ НА ЮГЕ
ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, Тюмень

Тюменская область расположена на территории крупнейшего очага описторхоза. Возбудитель *Opisthorchis felineus* (Riv., 1884), найденный в Сибири еще в конце 19 века, до сих пор широко распространен среди жителей данного региона. Удельный вес описторхоза по отношению к другим паразитарным заболеваниям населения области в 2012 г. составлял 44,0 % (Ржанова, 2013). Единственный путь заражения данным паразитом – это употребление сырой или недостаточно обезвреженной рыбы. Наиболее высокие показатели зараженности населения и рыбы данным гельминтом регистрируются в русле Оби и Иртыша (Скрябин, 1932; Волкова, 1941; Плотников, 1950; Фаттахов, 1990). К верховьям этих рек и их притоков заболеваемость людей и инвазированность рыб снижается (Филатов, Скареднов, 1985; Фаттахов, 1997). Одним из ведущих факторов заражения людей является способ употребления рыбы в пищу. Многие местные жители Среднего и Нижнего Приобья не подвергают рыбу термической обработке, что ведет к заражению гельминтом (Климшин, 1972). Кроме того, в последние годы расширился список гельминтов, передающихся через рыбу, таких как трематода – возбудитель меторхоза *Metorchis bilis* (МУК 3.2.988-00, 2000 г.). В связи с этим водоемы Исетского района представляют интерес в плане изучения природных предпосылок для заражения населения описторхозом и меторхозом в верховьях притоков 4–5 порядков (Исетский р-н).

Река Ирюм – это слабопроточный приток реки Исети. Это хорошо прогреваемый водоем с прозрачной водой, богатой растительностью и илистым дном, являющийся местообитанием моллюсков *Bithynia tentaculata* и *Opistorchophorus troscheli* (сем. Bithyniidae). *O.troscheli* является первым промежуточным хозяином личинок описторхид и, в частности, возбудителя описторхоза. Река Ирюм протекает через с. Гаево на территории Исетского района Тюменской области.

Исследования водоема на наличие биотопов моллюсков – промежуточных хозяев описторхов и меторхов – были проведены общепринятыми методами. Сбор моллюсков проводился в теплые солнечные дни с 11.00 до 16.00 в зарослях водной

растительности и на погруженных предметах. С помощью сачка облавливался участок вдоль прибрежной линии водоема не далее чем на 2–5 м от берега. При этом сачком несколько раз проводили под углом 40–45° по водным растениям (на глубине 20–50 см) с таким расчетом, чтобы находящиеся на них моллюски «ссыпались» в сачок. Для ориентировочного определения плотности популяции на 1 м² использовался сачок диаметром 25 см. При этом облавливалась полоса в 1 м (один провод сачка) 4 раза и подсчитывалось число моллюсков. Определение плотности и подсчет моллюсков производился в нескольких участках водоема, и вычислялся средний показатель. Для вскрытия использовался компрессионный метод: моллюсков вместе с раковинной раздавливали между компрессионными стеклами. Осколки раковины не мешают обнаружению личинок и партенит. Препарат рассматривали под бинокляром. Обнаруженных паразитов изучали под бинокляром или микроскопом и фотографировали. Определение проводили по определителю «Церкарии трематод, развивающиеся в битинидах» в книге С. Беэра «Биология возбудителя описторхоза» (Беэр, 2005) и электронному ресурсу «Атлас церкарий трематод Среднего Поволжья» (Видеркер, с соавт., 2009). Рыбы исследовались на наличие метацеркарий трематод методом компрессии мышц (Сидоров, 1960).

Плотность моллюсков *Bithynia tentaculata* и *Opistorchophorus troscheli* на 1 м² в середине сентября 2013 года в реке Ирюм была 66,4 и 54,6 экз/ м². Зараженность *Bithynia tentaculata* и *Opistorchophorus troscheli* церкариями трематод в данный период составила 33,9 % и 18,8 %. Установлена инвазия 3 видами трематод. Наиболее распространенными видами церкариев были *Asymphylogdora sp.* и *Psilotrema spiculigerum*. Заражения моллюсков описторхидами не было обнаружено, что, вероятно, может быть связано с тем, что исследование проводилось позднее выхода церкарий и в период раннего развития описторхид на стадии спороцист, что значительно затрудняет идентификацию. Отсутствие церкарий описторхов и меторхов в моллюсках указывает на их выход в конце июня – начале июля, что подтверждается наличием сформированных метацеркарий у сеголеток рыб.

В период исследований в уловах встречались лишь сеголетки и годовики рыб. Старшие возрастные группы в притоках Исети с июня мигрируют в основное русло реки. Исследования годовиков уклей и плотвы, проведенные на этом водоеме в 2013 году, показали, что в середине июня личинками описторхид (*Metorchis bilis*, *M. xanthosomus* и *Opisthorchis felineus*) было заражено 40,0 % исследованной уклей (*Alburnus alburnus*) и 77,8 % плотвы (*Rutilus rutilus*). У 33,3 % экземпляров плотвы отмечалась тройная микстинвазия метацеркариями указанных выше описторхид, а у уклей такие случаи не наблюдались. Экстенсивность инвазии уклей составляла по 24,0 % для *M. xanthosomus*

и *O. felineus*, а для *M. bilis* – 8,0%. У плотвы данный показатель составил 66,7 % для *O. felineus* и по 44,4 % – для двух видов меторхисов. Интенсивность инвазии уклеи составляла для *M. bilis* – 0,1, для *M. xanthosomus* – 0,9, для *O. felineus* – 0,5. У плотвы насчитывалось в среднем по 4,0 метацеркария *O. felineus*, 1,9 метацеркария *M. bilis* и 1,4 метацеркария *M. xanthosomus*. Так как исследование проводилось на годовиках рыб в июне, то эти данные характеризуют уровень инвазии в 2012 году.

В середине сентября 2013 г. у сеголеток обоих видов была отмечена 100 % зараженность тремя данными видами описторхид. Средняя интенсивность инвазии у уклеи составила 12,9 метацеркариев для *O. felineus*, 4,8 – для *M. bilis* и 15,2 – для *M. xanthosomus*, у плотвы – 12,2, 6,4 и 20,1 метацеркариев соответственно.

Таким образом, по полученным данным, за два сезона можно отметить различие в уровне инвазии вторых промежуточных хозяев личинками описторхид в разные годы. В отдельный сезон уровень зараженности рыб может быть одинаково высоким для разных видов рыб, в другой – он может различаться. В сезон 2012 года, по экстенсивному и интенсивному показателям, наиболее была заражена плотва. В 2013 году она лишь немного уступила уклеи в интенсивности инвазии личинками описторхов. Среди описторхид у обоих видов рыб в эти сезоны по всем показателям доминируют *O. felineus* и *M. xanthosomus*. И только в 2013 году экстенсивность инвазии была одинаковой для всех трех видов. Необходимо отметить, что показатели экстенсивности и интенсивности находятся в прямой зависимости друг от друга. Так, в 2013 году вместе с экстенсивностью возросла и интенсивность инвазии. В данном водоеме, очевидно, условия для заражения уклеи и плотвы в разные периоды неодинаковы, на что указывают данные 2012 года. В то же время восприимчивость к разным видам трематод у них одинаковая. Об этом свидетельствуют данные 2013 года, когда показатели инвазии у них не отличались. Соответственно можно утверждать, что на различие в уровне инвазии описторхидами двух видов карповых рыб могут влиять особенности их экологии.

Таким образом, установлено, что даже в притоках 4–5 порядков Оби и Иртыша могут создаваться условия для высокого уровня заражения второго промежуточного хозяина данных трематод. Однако отсутствие или малочисленность рыб старших возрастных групп в период выхода личинок паразитов из моллюсков в притоках и старицах разрывает контакт между этими звеньями паразитарной цепи, что ведет к низкой зараженности этих возрастных групп рыб. Соответственно снижается и вероятность заражения населения по сравнению с районами, прилегающими к основному руслу Оби и Иртыша.

УДК 595.775:599.323.3:579.842.23:616.98-022(470.62/.67)

Лазаренко Е. В.

БЛОХИ, ПАРАЗИТИРУЮЩИЕ НА ТУШКАНЧИКАХ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Анализ сведений литературы и материалов справочной картотеки коллекции блох Ставропольского противочумного института позволил определить видовой состав блох, паразитирующих на тушканчиках семейств Dipodidae Fischer, 1817 и Allactagidae Vinogradov, 1925 в природных очагах чумы на территории Северного Кавказа: Прикаспийском Северо-Западном степном (14), Прикаспийском песчаном (43), Дагестанском равнинно-предгорном (03), Терско-Сунженском низкогорном (04). Тушканчики и их блохи являются существенными компонентами биоценозов природных очагов чумы зоны пустынь, полупустынь и сухих степей. В отдельные годы в эпизоотический процесс в этих очагах, кроме основных носителей, вовлекались и тушканчики. В частности, для Прикаспийского Северо-Западного очага в числе природных носителей возбудителя чумы указан емуранчик, а в Прикаспийском песчаном очаге в эпизоотический процесс вовлекались большой и малый тушканчик, емуранчик. Естественное носительство чумы установлено и для блох тушканчиков *Ophthalmopsylla volgensis* и некоторых видов рода *Mesopsylla*.

Фенок Б. К. отнес тушканчиков к группе факультативных второстепенных носителей, лишь вовлекающихся в эпизоотию среди основных носителей и не способных длительно сохранять возбудителя в своих популяциях. На основе наблюдений в природе и экспериментальных исследований был сделан вывод, что основная роль тушканчиков в очагах сводится к разносу чумы на большие расстояния и быстрому расширению границ эпизоотической территории.

Из представителей семейства Dipodidae Fischer, 1817 в пределах рассматриваемой территории встречается тушканчик мохноногий (*Dipus sagita* Pallas, 1773) и емуранчик обыкновенный (*Stylodipus tehun* Lichtenstein, 1823). Семейство Allactagidae Vinogradov, 1925 представлено тремя видами: тушканчик большой (*Allactaga major* Kerr, 1792), тушканчик малый (*Allactaga elater* Lichtenstein, 1825) и тарбаганчик (*Pugeretmus pumilio* Kerr, 1792).

На тушканчиках паразитируют блохи, принадлежащие к различным экологическим группам. Всего зарегистрировано 13 видов блох, как специфических для этих зверьков, так и попавших на них случайно при контактах тушканчи-

ков с их специфическими хозяевами: *Mesopsylla hebes dampfi* Wagner et Ioff, *Mesopsylla eucta* Damhf, *Ophthalmopsylla volgensis* Wagner et Ioff, *Nosopsyllus (N) mokrzecky* Wagner, *N. (N) consimilis* Wagner, *Citellophilus tesquorum* Wagner, *Frontopsylla semura* Wagner et Ioff, *F. elata* Jordan et Rothschild, *N. setosa* Wagner, *N. laeviceps* Wagner, *Amphipsylla kuznetzovi* Wagner, *Leptopsylla segnis* Schonherr, *Stenoponia ivanovi* Ioff et Tiflov. Дополнительно в норах найдено еще 2 вида: *Frontopsylla frontallis* Rothschild, *Amphipsylla rossica* Wagner.

Специфическими блохами тушканчиков являются следующие виды: *M. hebes*, *M. eucta tusckan*, *O. volgensis*. Эти виды на иных хозяевах встречаются редко.

Основным паразитом большого тушканчика является *M. hebes*. Всего на большом тушканчике паразитирует 11 видов блох. *O. volgensis* встречается в основном в гнездах и лишь единичные экземпляры – на зверьках. Два вида, *M. hebes* и *N. setosa*, паразитируют на тушканчиках во всех рассматриваемых очагах. Наиболее разнообразен видовой состав блох большого тушканчика в Прикаспийском песчаном очаге чумы – 8 видов.

На малом тушканчике во всех указанных очагах паразитирует пять видов блох: *M. eucta tusckan*, *O. volgensis*, *N. mokrzecky*, *N. setosa*, *N. laeviceps*.

Из специфических блох тушканчиков на емуранчике и тарбаганчике преобладает *M. eucta tusckan*. На емуранчике зарегистрировано 10 видов блох, из них 4 вида (*M. hebes*, *M. eucta tusckan*, *O. volgensis*, *C. laeviceps*) встречаются во всех очагах, в которых он обитает. Наиболее разнообразен видовой состав блох на емуранчике в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы – 10 видов. На тарбаганчике зарегистрировано 9 видов блох. Наиболее разнообразен видовой состав блох, зарегистрированных на тарбаганчике в Прикаспийском песчаном природном очаге, – 9 видов.

Из блох других грызунов на тушканчиках встречаются в основном блохи сусликов и песчанок. Всего таких видов оказалось 10. Особенно много неспецифических паразитов имеет тарбаганчик и емуранчик, значительно меньше – большой и малый тушканчики.

УДК 591.261.2:599:616.911–002.151:556.55(571.12)

Леонтьева С. А.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора»,
Тюмень

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острая вирусная природно-очаговая болезнь, возбудитель которой относится к роду *Hantavirus*, сем. *Bunyaviridae*. Более 98 % случаев заражения ГЛПС зарегистрировано на 44 из 58 административных территорий Европейской части России (в среднем 6,5 случая на 100 тыс. населения), главным образом, в очагах, приуроченных к лесным ландшафтам. Почти 90 % всех зарегистрированных в РФ случаев заражения ГЛПС приходится на Приволжский федеральный округ. Относительный показатель заболеваемости в 11 из 15 субъектов округа превышает, в среднем, 10 на 100 тыс. населения. Особенно высокие показатели отмечены в Республике Башкортостан (54,7) и Удмуртской республике (54,1), а также в Республике Марий Эл (26,4), Оренбургской области (22,8), Республике Татарстан (20,0), Ульяновской (19,0) и Пензенской областях (16,4), Республике Мордовия (15,6), Самарской области (12,4) Чувашской республике (12,1), Пермской области (10,6). Именно в этих республиках и областях, на территории активнейших природных очагов расположены крупные населенные пункты, что многократно увеличивает риск заражения людей. На долю Дальневосточных регионов приходится около 2 % от всех случаев заболевания ГЛПС в России.

По данным Косилко С. А., Балахонова С. В., Бренева Н. В. и др. (ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»), в 2013 г. зарегистрировано 64 случая заболеваний ГЛПС, из них 61 – выявлен в Дальневосточном федеральном округе и 3 – на территории Уральского федерального округа): в Ханты-Мансийском (1 случай – 0,06 ‰) и Ямало-Ненецком (2 случая – 0,37 ‰) автономных округах. Наибольшее количество больных выявлено в Приморском крае – 43 (2,32 ‰), в Хабаровском крае – 16 больных (1,19 ‰), среди них 1 ребенок до 14 лет, 2 – в Амурской области (0,24 ‰). В основном болеют городские жители (81 %). По выполненным лабораторным исследованиям, антиген хантавирусов обнаружен в 0,5 % из 1903 проб диких млекопита-

ющих. В 829 пробах кровососущих членистоногих антиген хантавирусов не выявлен. Из 3769 проб от мелких млекопитающих антитела к хантавирусам составили 10 % (321 – в Хабаровском крае, 24 – Омской области, 35 – в Приморском крае). Из 1446 проб от людей антитела к хантавирусам обнаружены в 86 (6 %) случаях: 49 – в Приморском крае, 32 – в Хабаровском крае, 2 – в Кемеровской области, по 1 пробе – в Тюменской области и Республике Хакасия). РНК хантавирусов обнаружена в 7,7 % (Хабаровский край) из 971 пробы от мелких млекопитающих.

В настоящее время доказано наличие двух антигенных различий вариантов возбудителя ГЛПС, каждый из которых в природных условиях эволюционно ассоциирован с одним видом мелких млекопитающих. Вирус Хантаан циркулирует в природных очагах Дальнего Востока России, Южной Кореи, КНДР, Китая, Японии; его основным носителем служит полевая мышь. Вторым вариантом хантавируса – европейский (западный) – Пуумала – обнаружен в Финляндии, Швеции, Франции, Бельгии, в России и Беларуси. Резервуаром его является рыжая полевка. Передача вируса возможна при соприкосновении с грызунами или инфицированными объектами внешней среды. Допускается возможность заражения человека алиментарным путем, например, при употреблении продуктов, которые не подвергались термической обработке (капуста, морковь и т. п.) и были загрязнены грызунами. Передача возбудителя инфекции от человека к человеку не происходит.

Как известно, существование активного очага инфекции возможно лишь при непрерывной циркуляции возбудителя между хозяевами через факторы окружающей среды или при непосредственном контакте с инфицированными носителями.

Установлено, что грызуны, инфицированные хантавирусами, обычно не проявляют клинических признаков болезни, являются носителями вируса в течение длительного периода как животные-резервуары и выделяют его с секретами слюнных желез и экскретами (моча, фекалии) во внешнюю среду с высоким уровнем выделения в первый месяц после заражения. Вирусы обнаруживаются в легких, печени, селезенке, почках, буром жире, слюнных железах, моче и кале. Бессимптомная инфекция не оказывает заметного влияния на жизнедеятельность животного.

По результатам исследований В. В. Якименко, С. Б. Гаранина, М. Г. Малькова и др. за 2008 г. (зоологические данные по млекопитающим получены от канд. биол. наук А. П. Зуевского, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области»), природные очаги хантавируса, генотипа Пуумала, локализованы в пределах подзоны мелколиственных лесов на восток до болотистых территорий Ишим-Иртышского междуречья. Возбудитель в пределах подтайги связан с двумя видами лесных полевок: рыжей *Clethrionomys (Myodes) glareolus* и красно-серой *Cl.(M.) rufocanus*. Последний вид

в пределах Западной Сибири имеет выраженный мозаичный характер распространения. Кроме естественных хозяев, на территории Тюменской области, в пределах очаговых территорий хантавируса Пуумала отмечается периодическое выявление инфицированности красных полевок – 3–5 % и обыкновенных землероек (до 20 %). Средне-многолетняя инфицированность грызунов составила $7,1 \pm 3,9$ % – в пойменных и $6,7 \pm 3,7$ % – во внепойменных биоценозах, достигла максимума в липняках: $17,1 \pm 4,5$ % ($22,2 \pm 6,9$ % – рыжая и $14,8 \pm 7,0$ % – красно-серая полевки).

Сибирская группа штаммов хантавируса формирует два кластера по географическому принципу – тюменский и омский, однако высокий уровень гомологии между кластерами подтверждает их принадлежность к одному геноварианту.

Цель нашей работы: выявление природного очага ГЛПС в окрестности оз. Кучак Нижнетавдинского района Тюменской области и степени инфицированности микромаммалий. Результаты исследования будут способствовать разрешению практических вопросов о распространении геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Тюменской области.

Озеро Кучак расположено в Нижнетавдинском районе Тюменской области, в подзоне мелколиственных смешанных лесов. Основу растительного покрова района составляют осиново-березовый, березово-осиновый и липовый леса. Наличие озера, окаймленного лесом и кустарниками, является дополнительным фактором для поддержания высокой численности мышей и, как следствие, существования природного очага инфекции.

Отлов животных проводили в сентябре 2013 г. стандартным методом: ловушко-линии (живоловками). Отловлено 92 зверька, из них: 80 – рыжая полевка; 7 – красная полевка; 4 вида бурозубок, 1 – мышь лесная.

По рекомендации профессора Мясникова Ю. А. (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН) оценку степени активности очага определяли по процентному заражению зверьков: свыше 20 % – очень высокая; 11–20 % – высокая; 6–10 % – средняя; менее 5 % – низкая.

Детекцию хантавирусного антигена из органов грызунов проводили с помощью иммуноферментного анализа, используя коммерческую тест-систему «Хантагност» производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН (г. Москва).

По результатам наших исследований, антиген хантавируса обнаружен в $6,5 \pm 2,57$ % из 92 проб от мелких млекопитающих. Все инфицированные зверьки относились к виду *Clethrionomys (Myodes) glareolus*. Средний процент инфицированности грызунов можно связать с периодом перед началом зимовки, осенним, когда выражены миграционные процессы, что уменьшает вероятность внутри- и межвидовых контактов.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод о наличии активного природного очага инфекции на юге Тюменской области. На данной территории поддержание вирусного зооноза происходит за счет численности рыжей полевки – весьма специализированного лесного грызуна, редко встречающегося за пределами лесных биотопов и мало склонного к синантропизму. Поэтому в очагах ГЛПС люди соприкасаются с вирусоносителями, как правило, в их естественных местообитаниях.

УДК 595.421 (574.34)

Макенов М. Т., Якименко В. В.,
Малькова М. Г.

**МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА
ЧИСЛЕННОСТИ ТАЁЖНОГО КЛЕЩА
(IXODES PERSULCATUS,
SCHULZE, 1930) В СЕВЕРНОЙ
ЛЕСОСТЕПИ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ**

ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых
инфекций» Роспотребнадзора,
Омск

Таёжный клещ (*Ixodes persulcatus*, Schulze, 1930) как один из основных компонентов природных очагов целого ряда инфекций является объектом пристального внимания, зоологов, паразитологов и эпидемиологов вот уже более 70 лет. Подобный интерес учёных способствовал накоплению больших массивов информации за длительный период. Это позволяет более детально изучить временные аспекты экологии вида и прогнозировать его численность. Актуальность подобных исследований не вызывает сомнений и имеет практическую значимость при оценке риска заболеваемости клещевыми инфекциями и планировании профилактических мероприятий.

Данная работа является частью большого проекта, направленного на изучение динамики численности таёжного, лугового (*Dermacentor reticulatus*, Fabricius, 1794) и степного (*Dermacentor marginatus*, Sulzer, 1776) клещей, а также их прокормителей в лесостепной зоне Среднего Прииртышья (на примере Омской области).

Цель данной работы: изучить особенности многолетней динамики численности различных фаз развития таёжного клеща в лесостепной зоне Омской области.

Для исследования общих закономерностей динамики численности клещей были использованы материалы многолетних учётов численности имаго иксодовых клещей и мелких млекопитающих – прокормителей преимагинальных стадий, на стационаре Омского НИИ природно-очаговых инфекций в северной лесостепи Омской области

(Тюкалинский район). В работе рассмотрен период с 1977 по 2002 г. Учётные площадки располагались в непосредственной близости от оз. Тенис. Сбор имаго проводился сотрудниками института в мае методом кошения на флаг. В анализе использовались данные по отловам мелких млекопитающих в лесных биотопах в период июль-сентябрь. Для оценки относительной численности активных преимагинальных фаз развития клещей использовали показатели поражённости зверьков по результатам очёсов. Животных отлавливали с помощью давилок и/или живоловок, выставляемых ловушко-линиями согласно стандартной методике (Кучерук, Коренберг, 1964; Якименко и др., 2013). Количество ловушек в ловушко-линиях было кратно 25. Если в данный год проводили отловы на нескольких ловушко-линиях, рассчитывались средний показатель численности мелких млекопитающих (экз. на 100 л/с) и средний индекс обилия клещей (Ио; экз./ос.).

В ходе обработки первичных материалов были получены временные ряды, а так как учёты проводили не ежегодно, ряды были неполные и содержали пропуски. Для восстановления пропусков был использован метод бикубической интерполяции сплайнами (Стечкин, Субботин, 1976).

Для разложения восстановленных временных рядов использовали метод сингулярного спектрального анализа – SSA (Golyandina, Korobeinikov, 2013). Все необходимые расчёты проводили с помощью пакета RSSA в среде R. При этом использовали следующий алгоритм:

1. SSA-декомпозиция ряда.
2. Автоматическая группировка элементарных компонентов ряда посредством кластеризации.
3. Проверка полученных групп с помощью матриц w-корреляций.
4. Восстановление аддитивных компонентов ряда.

SSA-разложение проводили последовательно: сначала выделяли тренд при малом значении длины окна, затем выделяли сезонные компоненты при большом значении длины окна $L = N/2 - 1$, где N – длина ряда.

Для сравнения временных рядов использовали кросскорреляционный анализ.

Интересные результаты были получены при анализе динамики обилия личинок таёжного клеща. График временного ряда имеет сложную форму: можно выделить период с низкой численностью – 1976–1987 гг. (Ио=0,04-0,44) с выбросом в 1985 г. (Ио=1,31), затем период взрывного подъёма с пиком в 1993 г. (Ио=3,23) и последующая плавная депрессия с минимумом в 2002 г. (Ио=0,04).

Линия тренда имеет плавный подъём с пиком в 1993 г. и последующим плавным снижением. Сезонное разложение позволило выделить две компоненты: первая циклическая компонента с большим периодом – 14 лет, вторая имеет более короткий период – 7 лет.

Индексы обилия нимф таёжного клеща были

значительно меньше индексов обилия личинок. Динамика численности нимф сходная с таковой для личинок. Первый небольшой кратковременный подъём наблюдался в 1985 г. ($I_o=0,18$), затем длительный период роста численности с пиком в 1995–1996 гг. ($I_o=0,78-0,80$), далее – резкое снижение численности в 1998 г. ($I_o=0,00$) и последующий рост в 2002–2004 гг. ($I_o=0,22-0,47$).

При декомпозиции временного ряда динамики численности нимф были получены две аддитивные составляющие: тренд и сезонная компонента. Линия тренда, как и в случае с личинками, имела колоколообразную форму с пиком в 1993–1994 гг. Сезонная компонента имела выраженную цикличность с периодом в 5–6 лет.

Кросскорреляционный анализ относительной численности личинок и нимф таёжного клеща показал значимую корреляцию с лагом от –3 до 3 лет. Максимальное значение коэффициента корреляции соответствует нулевому лагу ($r=0,77$; Stand. Error (SE)=0,19) и лагу в 1 год ($r=0,72$; SE=0,19). Этот результат позволяет сделать вывод, что большое количество личинок, напивавшись, линяли в нимф, которые в этот же сезон активизировались и нападали на зверьков. Часть личинок линяли к концу лета и давали неактивных нимф, которые уходили в диапаузу. Эти нимфы, а также те нимфы, которые в прошлом году не смогли напитаться, дают значимую сильную корреляцию с лагом в один год.

Процедура кросскорреляционного анализа была проведена также и для линий тренда, выделенных из временного ряда динамики личинок и нимф. Анализ показал, что тренды изменения численности личинок и нимф практически идентичны и различаются только амплитудой (значением индекса обилия), при нулевом лаге $r = 0,995$ (SE=0,186). Подобная, почти синхронная динамика линий тренда может свидетельствовать о качестве проведённой декомпозиции временных рядов и приемлемости полученных моделей аддитивных составляющих.

Для имаго имеются данные численности с 1972 по 1994 г., и за этот период просматривается почти линейный положительный тренд с увеличением численности почти в два раза. Выделенная сезонная компонента имеет периодичность 6–7 лет. Анализ кросс-корреляции между рядами данных имаго-личинки и имаго-нимфы показал отсутствие значимых связей.

Анализ циклических компонент во временных рядах показал наличие выраженных колебаний с периодом 7 и 14 лет для личинок, 5–6 лет для нимф и 6–7 лет для имаго таёжного клеща. Примечательно, что, несмотря на примерно одинаковый период (6–7 лет), данные циклы не связаны между собой – кросс-корреляции между выделенными гармониками не выявляются. По-видимому, комплекс факторов, обуславливающих полученные циклические компоненты, включает в себя также естественную периодичность динамики численности

основных прокормителей каждой фазы жизненного цикла.

Исследование динамики относительной численности таёжного клеща показало устойчивый рост обилия всех фаз жизненного цикла в период с конца 1970-х до середины 1990-х. Этот результат хорошо согласуется с общей картиной изменения южной границы распространения таёжного клеща в пределах Омской области. В 1960-х годах южную границу проводили по северной лесостепи (Богданов, 1968), позднее было показано, что в целом по Западной Сибири в середине 1980-х произошло смещение границ ареала вида в южном направлении (Якименко и др., 2013). Полученные нами линии тренда для индекса обилия всех фаз развития таёжного клеща хорошо отражают этот процесс. Причины выявленной тенденции предположительно связаны с изменением гидро-климатических условий лесостепной зоны Среднего Прииртышья, влияющих на популяцию клещей непосредственно и/или опосредованно через динамику численности основных прокормителей.

УДК 616.98-036.22(470,6)«2013»

**Манин Е. А., Василенко Н. Ф.,
Малецкая О. В., Семенко О. В.,
Котенёв Е. С., Волынкина А. С.,
Леванцова Я. В.**

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В ЮЖНОМ И СЕВЕРО-КАВКАЗСКОМ ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГАХ В 2013 Г.

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – зоонозная природно-очаговая болезнь, вызываемая вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ). Ареал распространения вируса ККГЛ практически совпадает с ареалом распространения иксодовых клещей рода *Hyalomma*, являющихся основными переносчиками вируса, и охватывает Африку и южную часть Евразии. Более чем в 30 странах этого региона выявлена заболеваемость КГЛ или доказана циркуляция вируса ККГЛ.

На Юге России в 2013 г. сохранялась эпидемически неблагоприятная обстановка по КГЛ. Зарегистрировано 79 случаев заболевания этой инфекцией (из них 4 летальных), что на 6,8 % больше, чем в 2012 г. (74 – больных, 1 – летальный). Больные КГЛ в 2013 г. зарегистрированы в 5 субъектах Южного федерального округа (ЮФО) и Северо-

Кавказского федерального округа (СКФО). Наибольшее число заболевших выявлено в Ростовской области – 38 (2 летальных) и Ставропольском крае – 32, кроме того, зарегистрировано 6 случаев заболевания (1 летальный) в Волгоградской области, 2 случая (1 летальный) – в Республике Дагестан и 1 случай в Астраханской области.

В Ростовской области, в 2013 г. количество заболевших снизилось на 7,31 % (41 случай, 1 летальный в 2012 г.), в Астраханской – на 83,3 % (6 случаев в 2012 г.). В Республике Калмыкия, в 2013 г. заболеваемость КГЛ не регистрировалась (3 случая в 2012 г.). В Ставропольском крае количество заболевших возросло на 33,3 % (24 случая в 2012 г.). В Республике Дагестан 1 случай – заболевание в Кизлярском районе – квалифицирован как заносный из Ростовской области.

Наиболее высокий показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в 2013 г. отмечен в Ставропольском крае – 1,16 и Ростовской области – 0,89. В то же время в Ставропольском крае летальных случаев заболевания не выявлено, в Ростовской области – 2 летальных исхода заболевания КГЛ (5,3 % от числа заболевших), по 1 летальному случаю – в Волгоградской области (16,7 %) и в Республике Дагестан (50,0 %). Следует отметить, что в Ставропольском крае летальные случаи заболевания отсутствуют с 2009 г. Практически ежегодно регистрируются летальные исходы КГЛ в Ростовской и Волгоградской областях, в Республике Дагестан.

В Волгоградской области заболевания регистрировались в Котельниковском (3 случая), Октябрьском (2) и Чернышковском (1) районах с мая по август.

В Ставропольском крае эпидемические проявления КГЛ установлены в 13 административных районах: Апанасенковском (6), Арзгирском (1), Благодарненском (1), Буденновском (1), Изобильненском (1), Ипатовском (6), Красногвардейском (4), Нефтекумском (2), Новоселицком (2), Петровском (1), Труновском (2), Туркменском (3) и Шпаковском (2).

Эпидемическая активность природного очага КГЛ в Ростовской области выявлена на 17 административных территориях: в городах Каменск-Шахтинском (2), Новошахтинске (1), Сальске (2), а также в Веселовском (2), Дубовском (1), Зерноградском (1), Зимовниковском (1), Кагальницком (1), Каменском (2), Мартыновском (2), Морозовском (1), Песчанокопском (2), Пролетарском (5), Ремонтненском (1), Сальском (10), Тацинском (2) и Целинском (2) районах.

Сезонность заболевания во всех субъектах ЮФО и СКФО, эндемичных по КГЛ, соответствовала многолетней. Первый больной (по дате заболевания) был зарегистрирован во 2-й декаде апреля в с. Архангельском Ставропольского края. Заболеваемость нарастала с апреля, пик пришёлся на май–июнь (38,1 % и 39,2 % от всех больных), спад – на август. Последний случай заболева-

ния отмечен во 2-й декаде августа в г. Каменск-Шахтинском Ростовской области.

Количество лиц, обратившихся в лечебно-профилактические организации по поводу укусов клещами, в 2013 г. возросло на 5,5 % (до 22000), в т. ч. детей – на 4,1 % (7534) по сравнению с 2012 г. (20845, в т. ч. 7236 детей), что связано с более ранней активизацией переносчиков.

Эпизоотологический мониторинг природного очага КГЛ в 2013 г. проводился во всех субъектах ЮФО и СКФО, за исключением Чеченской республики и Республики Ингушетия.

В Астраханской области антиген вируса ККГЛ выявлен у иксодовых клещей *H. marginatum*, снятых с крупного рогатого скота (КРС), на территории 2 административных районов: Икрянинского (1 проба) и Красноярского (2 пробы).

В Волгоградской области циркуляция вируса ККГЛ зарегистрирована на территории 5 административных районов (Жирновского, Котельниковского, Октябрьского, Светлоярского, Чернышевского) и 2 городов (Волгограда и Волжского). При исследовании полевого материала антиген и РНК вируса ККГЛ выявлены в 12 пулах иксодовых клещей, в том числе *H. marginatum* – 6, *Dermacentor marginatus* – 1, *Rhipicephalus rossicus* – 4 и в 1 пробе без определения вида клеща. Кроме того, положительные результаты получены при исследовании суспензий органов мелких млекопитающих: доменной мыши (2) и лесной мыши (1). Наибольшее количество серопозитивных проб выявлено при исследовании полевого материала, доставленного из г. Волгограда (4 пробы) и Котельниковского района (5).

В Ростовской области маркёры возбудителя Крымской геморрагической лихорадки обнаружены на территории 12 административных районов. Вирусоформные клещи (35 пулов) выявлены на территории 10 районов (Кагальницкого, Дубовского, Семикаракорского, Сальского, Целинского, Тацинского, Волгодонского, Морозовского, Неклиновского и Ремонтненского), причём в 31 пробе (по 1 клещу) обнаружена РНК, а в 4 пулах выявлен антиген вируса ККГЛ. Наибольшее количество положительных проб отмечено в Сальском районе – 10 (24,4 % от числа всех положительных находок) и Пролетарском районе – 8 (19,5 %). В Аксайском районе антиген вируса ККГЛ выявлен в 1 пробе органов скворца обыкновенного, а в Пролетарском районе – в 5 пробах полёвки общественной.

В Ставропольском крае вирусоформные клещи обнаружены на территории 12 административных районов (Апанасенковского – 31, Буденновского – 6, Благодарненского – 22, Изобильненского – 3, Ипатовского – 14, Курского – 10, Нефтекумского – 27, Новоалександровского – 6, Новоселицкого – 6 проб, Туркменского – 1, Петровского и Красногвардейского – по 1 пробе) и 2 городов (Ставрополя и Кисловодска – по 2 пробы). В 63 суспензиях иксодовых клещей выявлена РНК,

в 78 – антиген вируса ККГЛ. Инфицированными возбудителем КГЛ были клещи 5 видов: *H. marginatum*, *H. scupense*, *D. marginatus*, *Rh. rossicus*, *Boophilus annulatus*. Кроме того, в Новоселицком и Апанасенковском районах антиген вируса ККГЛ выявлен в 5 пробах органов мелких млекопитающих. В 2013 г. в Ставропольском крае выявлено наибольшее количество (146) положительных проб по ЮФО и СКФО, что составило 49 % от всего числа исследованных проб.

В Краснодарском крае обнаружен антиген вируса ККГЛ в 9 пробах суспензий клещей, собранных на территории 6 административных районов: в Гулькевичском районе – по 1 пробе клещей *B. annulatus* и *Haemaphysalis concina*, снятых с КРС.; в Калининском районе – в 2 пробах клещей *H. marginatum*, снятых с крупного и мелкого рогатого скота (МРС); в Павловском районе – по 1 пробе клещей *Ixodes ricinus* (с МРС) и *Haem. concina* (с КРС); по 1 пробе – в Тихорецком (*Rh. sanguineus* с КРС) и Успенском (*Haem. concina* с КРС) районах.

В Республике Адыгея РНК вируса ККГЛ выявлена в 1 пробе клещей *I. ricinus*, снятых с КРС в Красногвардейском районе.

В Республике Калмыкия циркуляция вируса ККГЛ установлена на территории 7 административных районов (Городовиковского, Целинного, Сарпинского, Яшкульского, Ики-Бурульского, Яшалтинского, Малодербетовского) и г. Элисты. При исследовании 2119 экземпляров иксодовых клещей, объединённых в 250 пулов, в 13 обнаружена РНК, в 2 – антиген вируса ККГЛ. Положительные пробы составили 6 %.

В Кабардино-Балкарской республике антиген вируса ККГЛ выявлен в 24 пулах иксодовых клещей на территории 7 административных районов (Прохладненского, Терского, Майского, Чегемского, Баксанского, Урванского, Зольского) и в окрестностях г. Нальчика. Кроме того, в Прохладненском районе положительными были 5 проб суспензий органов мышей: по 2 пробы мыши полевой и лесной, 1 – мыши домовая.

В Республике Дагестан методом ИФА исследовано 1777 экземпляров иксодовых клещей, собранных на территории 5 административных районов: Бабаюртовского, Кизилюртовского, Ногайского, Тарумовского, Сергокалинского и г. Махачкалы. Положительные пробы составили 19,6 % (33 из 168 исследованных). Наибольшее количество положительных проб (13) пришлось на Сергокалинский район, что составило 39,4 % от всего числа положительных проб.

На территории Карачаево-Черкесской республики вируссофорные клещи выявлены на территории 4 административных районов: Ногайского (3 пробы), Адыге-Хабльского (1), Карачаевского (1) и Урупского (1). Положительные пробы составили 7,3 %.

В Республике Северная Осетия - Алания проведённые исследования объектов внешней среды

на наличие возбудителя КГЛ положительных результатов не выявили.

В целом в 2013 г. в 10 субъектах ЮФО и СКФО в объектах внешней среды выявлено 298 положительных проб на наличие РНК или антигена вируса ККГЛ.

Таким образом, в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах в 2013 г. эпидемиологическая обстановка по Крымской геморрагической лихорадке оставалась напряжённой, что требует обратить внимание на своевременность проведения в достаточном объёме в 2014 г. эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга за этой инфекцией. Кроме того, при предоставлении данных эпизоотологического надзора в Референс-центр по мониторингу за возбудителем КГЛ необходимо учитывать видовую принадлежность клеща – переносчика вируса ККГЛ.

УДК 616

Муфтахова Г. Ф., Говорова В. Г.

ЭХИНОКОККОЗ – ОСНОВНОЙ БИОГЕЛЬМИНТОЗ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Республике Башкортостан»,
Уфа*

Анализ статистических данных о паразитарной заболеваемости и карт эпидрасследования всех очагов биогельминтозов в Республике Башкортостан показал, что с 2003 по 2013 г. среди населения превалировал эхинококкоз (33%). Ежегодно регистрируется около 60 случаев этого заболевания (1,5 на 100 тыс. нас.) На втором ранговом месте стоит описторхоз (26 %), на третьем месте – токсокароз (23 %).

Заболеваемость проанализирована в возрастном аспекте. У взрослого населения наибольший удельный вес составлял эхинококкоз (31 %) и описторхоз (30 %). Среди детского населения лидирующую позицию занимали токсокароз (42 %) и эхинококкоз (39 %). Уровни проявления в числе заболевших актуальными биогельминтозами детского и взрослого населения аналогичны между собой. Исследуемые территории отличались по направленности линии тренда заболеваемости эхинококкозом и токсокарозом среди детского населения, динамика заболеваемости среди которых, как и среди всего населения в целом, характеризовалась неблагоприятной линией тренда на различных уровнях и с различными темпами среднегодового повышения трендовых показателей.

Установлены территории риска, расположенные на юге Республики Башкортостан (граница с Челябинской и Оренбургской областями). Выяв-

лен регион с высоким уровнем заболеваемости населения – Зауралье (юг Башкортостана). Анализ заболеваемости эхинококкозом среди детского населения показал, что за 11-летний период наибольший уровень зарегистрирован в Зианчуринском районе, второе место – в Баймакском районе. Уровни заболеваемости на данных территориях формировались в основном из показателей когорты детского населения 7-14 лет. На этой территории заболеваемость значительно превышает среднюю по республике.

Пораженность сельскохозяйственного скота эхинококкозом изучена по данным ветеринарной станции Баймакского и Зианчуринского районов. Динамика пораженности в Баймакском районе имела выраженную неблагоприятную тенденцию, особенно среди лошадей (20 %) и крупного рогатого скота (16 %). Среди свиней пораженность эхинококкозом не наблюдалась. В Зианчуринском районе наибольшая пораженность сельскохозяйственных животных отмечалась среди крупного рогатого скота (14 %).

Заболевания эхинококкозом выявляются преимущественно на поздних стадиях (100 % заболевших были прооперированы в республиканских учреждениях). На раннем доклиническом уровне, несмотря на наличие тест-систем для лабораторной диагностики, доля выявленных случаев ничтожно мала.

Условиями и причинами неблагополучной эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по эхинококкозу в Зауралье как среди людей, так и среди сельскохозяйственных животных является традиционно, в течение исторического периода сложившийся образ быта населения: тесный контакт людей с собаками на домашнем подворье и скормливание собакам внутренностей домашних животных при убое. Также при посещении леса население заражается через немые ягоды, источником загрязнения которых являются дикие животные и бродячие собаки.

Существенным компонентом эпиднадзора является лабораторная составляющая, предполагающая в современных условиях использование серологических (Эхинококк-IgG – ИФА – БЕСТ) и молекулярно-генетических методов исследования. Серологический скрининг среди работников животноводческих ферм как элемент профилактического медицинского осмотра по месту работы с целью раннего выявления эхинококкоза применяется в отдельных сельскохозяйственных районах. Лица, проживающие в таких же условиях, что и больной, обследуются по эпидпоказаниям на иммуноглобулины G к эхинококкозу. Имеются единичные положительные находки (от 2 до 5 в год). Для идентификации штаммовой принадлежности изолятов *Echinococcus granulosus* на территории Республики Башкортостан рекомендовано использовать метод ПЦР-анализа.

Указанные особенности в проявлениях эхинококкоза необходимы для принятия решений по

оптимизации диагностического компонента существующей системы эпидемиологического надзора за этой патологией на муниципальных уровнях.

УДК [550.8.053+528.944](004.94)

Остапович В. В., Худолеев А. А.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ СТРАН

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

В настоящее время существуют различные автоматизированные системы для наблюдения за эпидемическим процессом в течение заданного промежутка времени, с помощью которых можно проследить динамику развития заболевания, проанализировать имеющиеся данные в режиме реального времени с использованием Web-интерфейса. Определенная часть подобных систем создана с применением геоинформационных систем (ГИС). ГИС – это многоуровневая система, предназначенная для сбора, обработки, моделирования и анализа пространственных данных, с последующим отображением их на карте. Подобные системы существуют и используются во многих странах, находя различное применение своим возможностям. Важной составляющей частью ГИС является Web-клиент, который позволяет обращаться к базам геоданных, проводить ввод данных, их визуализацию и анализ в любой точке Земного шара при условии наличия персонального компьютера, ноутбука, планшета, смартфона с доступом в сеть Интернет.

Целью нашего исследования был сравнительный анализ систем эпидемиологического надзора на основе ГИС с применением Web-интерфейса.

Задачами исследования были:

- провести поиск систем эпидемиологического надзора, применяемых в разных странах, созданных с использованием ГИС;
- выбрать наиболее типичные системы;
- сделать сравнительное описание основных функций этих систем по единой схеме.

В открытом доступе в сети Интернет нами было найдено и протестировано девять ГИС систем, предназначенных для сбора и анализа эпидемиологических данных. Ниже мы характеризуем наиболее типичные из них.

AidsVu (США) – ГИС, на которой отображаются данные по ВИЧ-инфицированным и больным СПИДом. Программа интуитивно понятна даже

при минимальном знании английского языка и ориентирована на информирование населения. Имеет Web-интерфейс для анализа данных и показывает географическую привязанность заболевания. Пользователю предлагается два вида карт в масштабах страны, на одной из которых отображено количество заболеваний, распределенное по различным штатам в течение одного года, на другой же приведены сведенные данные за последние несколько лет. Существует третий вид карты, который позволяет получить различные статистические и сравнительные данные по конкретному штату.

В программе предусмотрены различные фильтры, позволяющие изучать количественные характеристики контингента инфицированных – начиная от возраста заболевших, пола и расы, заканчивая различными социальными детерминантами. Возможно отображение таких данных, как расположение центров ВИЧ-тестирования, учреждений, изучающих проблемы профилактики и лечения ВИЧ-инфицированных.

ГИС предоставляет возможность разностороннего отображения информации, стандартный выбор фильтров (пол, раса, возраст, социальные детерминанты).

Недостаток системы заключается в том, что доступ к ряду информации возможен только после регистрации на данном сайте.

MiaoliPublicHealthBureau (Тайвань, Китай) – ГИС, на которой отображаются данные о смертности. Основная градация идет по принципу: смертность от онкологии/от прочих заболеваний. Присутствует несколько фильтров: округ, пол, год. При выборе фильтра «Смертность» предлагаются подфильтры на выбор: «Смертность от рака» или «Смертность от других болезней». При выборе одного из них мы получаем доступ к выбору категории болезни, в которой имеем возможность выбора конкретного заболевания. После выбора нужного фильтра происходит изменение карты в цветовой схеме (разными цветами показана интенсивность фильтров). Вывод данных происходит в числовом значении заболеваемости на 100 тыс. населения. Одновременно с этим выполняется автоматическое построение диаграммы и графика по аналогичным показателям, что дает возможность проанализировать динамику заболеваемости по годам.

Карта не позволяет детально рассмотреть отдельно взятый город. Например, отсутствует возможность сравнить в пределах одной карты провинцию Мяоли и остальной Китай.

Данная ГИС предлагает перечень статистических, аналитических и рекомендательных данных по различным параметрам благополучия населения, представленных на китайском языке, для ознакомления и дальнейшего сохранения на ПК. Перевод текста происходит в течение нескольких секунд при использовании электронного переводчика.

Все данные представлены в открытом доступе, без предварительной регистрации. Возможна обратная связь с Public Health Bureau по электронной почте.

Эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа (Россия) – ГИС, основным показателем которой являются инфекционные болезни. После выбора конкретной инфекции и интересующего года на карте происходит построение областей, на которых цветом показана интенсивность проявления данного заболевания. Следует отметить, что большая часть предлагаемых инфекций рассматривается с двух сторон: заболевания детей и заболевания взрослых. Все числовые значения выводятся в виде индивидуального показателя, расчет которого ведется на 100 000 населения. Существует возможность построения графиков, в которых рассматриваются кривые заболеваемости за период 1997–2013 гг. Как приложение к Эпидемиологическому атласу ПФО доступны прямые ссылки на нормативную документацию (санитарные правила по профилактике конкретной инфекции), аналитические справки с анализом инфекционной заболеваемости в ПФО, информационные бюллетени и результаты мониторинга внешней среды.

Отдельным пунктом рассматривается ВИЧ-инфекция. Существует возможность построения карт и графиков относительно общих данных по ВИЧ в ПФО, характеристики степени устойчивости ВИЧ-1 к АРВП (антиретровирусным препаратам), субтипов ВИЧ-1 и смертности ВИЧ-инфицированных.

Данная ГИС информативна, ориентирована в большей степени на врачей-эпидемиологов, удобна в пользовании, постоянно обновляется.

Также Web-клиент позволяет работать с конструктором сводных таблиц (отображение графиков заболеваемости в виде таблицы, заданной формы).

Interactive Atlas of Heart Disease and Stroke (интерактивный атлас болезней сердца и инсульта), разработанный в Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Самый информативный Web-клиент из всех рассмотренных здесь, обладает большим количеством фильтров и гибкостью их настройки. Единственный Web-клиент, в котором имеется пошаговая рекомендация по построению карты и описание всех возможностей данной ГИС, а также возможность одновременного построения двух независимых карт. В меню навигации, кроме таких классических фильтров, как биометрические показатели и выбор конкретной болезни, присутствуют, например, социальные детерминанты (рассмотрение материального благополучия и уровня образования отдельных слоев населения) и особенности оказания медицинских услуг.

Все данные представляются в виде показателя на 100 тыс. населения и отображаются на карте различными цветами в зависимости от интенсивности показателя. Увеличение масштаба карты

возможно до уровня округа. Имеется возможность построения гистограмм по выбранным показателям. По запросу пользователя вся информация, имеющаяся на карте, может быть представлена в форме отчета с последующей распечаткой текстовой информации и самой карты. Также отличительной особенностью данной ГИС является функция интерактивного просмотра интенсивности проявляемого с течением времени признака за весь исследуемый период.

Общими для всех рассмотренных в обзоре ГИС является отсутствие масштабируемости карты до отдельного случая и отсутствие абсолютных данных по заболеваемости. Каждая ГИС направлена на мониторинг определенного, довольно узкого круга заболеваний и позволяет, в сущности, решать узконаправленные задачи, хоть и в масштабах страны.

Отметим для сравнения, что созданная специалистами ФКУЗ Ставропольский противочумный институт система поддержки принятия решений для санитарно-эпидемиологической службы на базе ГИС с применением технологии Web-интерфейсов позволяет масштабировать карту до отдельного случая, вести мониторинг по всем значимым для страны болезням и оперировать абсолютными данными. В то же время в данной системе отсутствует возможность пересчета абсолютных данных в относительные, а механизмы ввода информации и ее анализа требуют определенной доработки, так как не удобны для пользователей.

В целом можно сделать вывод, что ГИС являются распространенным и удобным инструментом для сбора и анализа данных, который позволяет оценить успешность проводимых медицинских (противоэпидемических) мероприятий и государственных программ здравоохранения. Анализ подобных систем, разработанных разными странами независимо друг от друга, позволяет использовать накопленный опыт при создании новых и совершенствовании ранее созданных для эпиднадзора геоинформационных систем.

УДК: 616.988:616.9:596.4

Пичурина Н. Л., Москвитина Э. А.,
Дворцова И. В., Романова Л. В.,
Забашта А. В., Забашта М. В.

РОЛЬ ПТИЦ В ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Территория Ростовской области благоприятна для обитания 165 видов птиц различных экологических комплексов, что определяет включение их в паразитарные системы природных очагов трансмиссивных болезней. Это подтверждено исследованиями 5754 экз. птиц (4187 проб) 90 видов 15 отрядов за период 2001–2013 годов. Лабораторные исследования по выявлению антигенов вирусов Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), Инко, Батаи, Тягиня, Синдбис и лихорадки Ку выполнены методом ИФА. Обнаружение *Borrelia burgdorferi* s.l. геновидов *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii* проведено в ПЦР.

Показано наличие в популяциях птиц шести вирусных и двух бактериальных инфекционных агентов. Традиционно птиц связывают с циркуляцией вируса Западного Нила. В Ростовской области это подтверждается положительными находками у восьми видов: ворона серая (*Corvus cornix*), грач (*Corvus frugilegus*), скворец обыкновенный (*Sturnus vulgaris*), чайка озерная (*Larus ridibundus*), чайка сизая (*Larus canus*), хохотунья (*Larus cachinnans*), крачка речная (*Sterna hirundo*), баклан большой (*Phalacrocorax carbo*).

Кроме вируса Западного Нила, птицы являются носителями и других арбовирусов, в том числе вируса ККГЛ, в паразитарную систему которого включается большое число видов: воробей домовый (*Passer domesticus*), воробей полевой (*Passer montanus*), ворона серая, грач, дрозд-рябинник (*Turdus pilaris*), куропатка серая (*Perdix perdix*), скворец обыкновенный, овсянка обыкновенная (*Emberiza citrinella*), сорока (*Pica pica*), чайка озерная.

Установлены экологические связи вирусов Инко, Тягиня, Батаи, Синдбис с грачами, обыкновенными скворцами, озерными чайками, речными крачками, белощеками крачками (*Chlidonias hybridus*).

Coxiella burneti обнаружены у домовых воробьев, серых ворон, грачей, дроздов-рябинников, серых куропаток, озерных чаек, сизых голубей (*Columba livia*).

В циркуляции *Borrelia burgdorferi* s.l. геновида *B. afzelii* принимают участие серые вороны, грачи, озерные чайки, обыкновенные скворцы.

Видовое разнообразие птиц, включающихся в паразитарные системы природных очагов, определяет их роль как носителей, транспортеров инфекционных агентов и возможность формирования естественной микст-инфицированности вирусно-бактериальной природы: вирус ККГЛ и *C. burnetti* у дрозда-рябинника и вирус ККГЛ и *B. afzelii* – у обыкновенного скворца.

УДК: 616.988:616.9:(470.61)

Пичурина Н. Л.¹, Москвитина Э. А.¹,
Дворцова И. В.¹, Феров Д. А.¹,
Айдинов Г. Т.²

ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНОЙ ОЧАГОВОСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Ростовской области» Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – нетрансмиссивный зооноз вирусной этиологии, занимающий ведущее место в структуре заболеваемости природно-очаговыми инфекциями в Российской Федерации. Тяжесть клинического течения болезни, отсутствие средств её специфической терапии, широта распространения природных очагов инфекции, территории которых зачастую вовлечены в сферу хозяйственной деятельности человека, определяют важность эпидемиологического надзора за ГЛПС.

Отсутствие регистрации заболеваемости ГЛПС в Ростовской области формально позволяет отнести территорию к неэндемичным. Однако климатогеографические характеристики, степень обводнённости, растительный покров и ряд других экологических параметров региона благоприятны для комфортного существования комплекса мышевидных грызунов, в том числе потенциальных носителей вируса.

Кроме того, на территориях, граничащих с Ростовской областью (Краснодарский и Ставропольский края, Воронежская и Волгоградская области), выявление антигена возбудителя ГЛПС в пробах органов, сформированных из фоновых видов грызунов, происходит регулярно. На некоторых сопредельных территориях регистрируется заболеваемость различной степени интенсивности.

Это определило необходимость проведения рекогносцировочных обследований по изучению

природной очаговости ГЛПС на территории Ростовской области.

Проведенный эпизоотологический мониторинг позволил выявить маркеры вируса ГЛПС в иммунофлуоресцентном анализе (с помощью набора реагентов «Хантагност» производства ФГУП «ПИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН») на различных административных территориях Ростовской области.

За период исследования определен спектр носителей вируса на территории области. Он представлен девятью видами мелких млекопитающих, эндемичных для области: полевка обыкновенная (*Microtus arvalis*), мышь лесная (*Apodemus sylvaticus*), мышь домовая (*Mus musculus*), мышь малютка (*Micromys minutus*), суслик малый (*Spermophilus pygmaeus*), крыса серая (*Rattus norvegicus*), хорек степной (*Mustela eversmanni*), белозубка малая (*Sorex minutus*), бурозубка обыкновенная (*Sorex araneus*). Большинство позитивных находок связано с пробами зверьков, отловленных на территориях, приуроченных к поймам рек Дон и Маныч.

Положительные находки регистрировали с 1996 по 2014 год. Частота выявления антигена в пробах от различных видов млекопитающих колебалась в пределах от 0,3 до 1,7 %, что свидетельствует о низкой активности природного очага. Однако данные о наличии иммунной прослойки к возбудителю ГЛПС среди жителей Верхнедонского, Чертковского, Октябрьского, Ремонтненского и Заветинского административных районов указывают на контакт населения с этиологическим агентом (Айдинов Г. Т., и др., 2007).

Наличие данных, подтверждающих циркуляцию вируса и выход его на уровень человеческой популяции, достаточность гостального компонента в совокупности с экологическими параметрами, благоприятными для существования всех компонентов паразитарной системы, свидетельствует о существовании на территории Ростовской области природного очага ГЛПС. Это требует постоянного мониторинга за этой инфекцией на всех уровнях эпидемического процесса, с уточнением её роли в структуре инфекционной заболеваемости региона.

удк 616.831-002-022.395.421(571.12)

Плышевский Г. В., Степанова К. Б.

**АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ
СЕРОПОЗИТИВНЫХ РЕАКЦИЙ
НА АНТИТЕЛА К ВИРУСУ
КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА
НА ЭНДЕМИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ
ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, Тюмень

Клещевой энцефалит (КЭ) – вирусная природно-очаговая инфекция, передающаяся иксодовыми клещами, протекающая с лихорадкой, интоксикацией, поражением нервной системы, принимающая иногда хроническое течение. Клещевым энцефалитом болеет как городское, так и сельское население, причем в последние годы отмечается рост доли (от 20 до 80 % (Наумов Р. Л.)) заболевших среди горожан, заразившихся на территории приусадебных участков или садовых товариществ, рост заболеваний, связанный с быстрым увеличением числа дачных участков, где значительная часть горожан живет постоянно в течение эпидсезона.

Тюменская область является эндемичной по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. Климатические и ландшафтно-географические факторы создают благоприятные условия для существования природных очагов клещевого вирусного энцефалита на всех 23 административных территориях области. Сезон передачи клещевых инфекций начинается с первых чисел апреля и продолжается по октябрь включительно.

Согласно данным Управления Роспотребнадзора по Тюменской области, среднееголетний уровень заболеваемости за последние 10 лет составил 12,7 на 100 тыс. населения. Показатель заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в 2011 г. возрос на 77 % по сравнению с аналогичным периодом прошлого года и составил 14,4 на 100 тыс. населения (2010 г. – 8,1). Всего было зарегистрировано 194 случая заболевания на 19 административных территориях. В сезон 2011 г. вырос удельный вес зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита до 8,6 % против 4,7 % – в 2010 г., из них зараженность иксодовых клещей, снятых с людей, составила 9,7 % против 6,7 % – в 2010 г., из объектов окружающей среды – 3,7 % (в 2010 г. – 3,0 %).

Цель нашей работы: выявление частоты серопозитивных реакций на наличие антител к вирусу клещевого энцефалита у населения из различных районов Тюменской области.

В ходе работы нами было обследовано 5377 сывороток крови пациентов – жителей Тюменской области, обратившихся в клинику

ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора, в эпидсезоны 2010–2011 гг., с апреля по октябрь, с целью дифференциальной диагностики «лихорадочных» состояний. Сыворотки крови исследовали в иммуноферментном анализе (ИФА) наборами тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) – наборами производства ФГУП «Микроген» (г. Томск).

По результатам наших исследований, в эпидемический сезон 2010 г. выявлено 467 положительных сывороток крови на наличие антител к вирусу клещевого энцефалита из 1774 исследованных (26,3 %); средний геометрический титр составил 1:320,1. Наибольший процент серопозитивных реакций был отмечен у обследованных жителей Армизонского (66,7 %), Упоровского (66,7 %), Голышмановского (62 %), Абатского (70 %) и Вагайского (62,5 %) районов.

В эпидемический сезон 2011 г. исследовано 2218 сывороток крови методом РТГА, из них положительных – 760 (34,2 %). Средний геометрический титр составил 1:34. Методом ИФА было исследовано 1385 сывороток крови, из них положительный результат дали 585 (42,2 %). Средний геометрический титр антител класса М составил 1:891; средний геометрический титр антител класса G – 1:1270.

Наиболее часто серопозитивные реакции регистрировались у жителей Армизонского (71,4 %), Упоровского (57,1 %), Голышмановского (85,7 %), Абатского (66,6 %), Бердюжского (75 %), Сорокинского (66,6 %), Омутинского (64,6 %) и Заводоуковского (88,8 %) районов.

Учитывая высокую частоту положительных реакций на наличие антител к вирусу клещевого энцефалита среди населения, можно сделать вывод о неблагоприятной эпидемиологической обстановке в Тюменской области по этой инфекции, особенно в районах, расположенных в подзоне подтайги.

УДК 619 (075.8)

Солнцев Л. А.

**ЭЛЕКТРОННЫЙ АТЛАС
КАК СРЕДСТВО СИСТЕМАТИЗАЦИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ
ДАНЫХ И МОНИТОРИНГА
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ
СИТУАЦИИ**

ФБУН ННИИЭМ им. академика И. Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Эпидемиология в последние десятилетия стала мощным источником статистических данных, требующих систематизации, анализа и развития

методов прогнозирования. При этом сами данные, как правило, достаточно гетерогенны по своей природе и в исходном виде мало пригодны для комплексного анализа. Одним из путей решения такой проблемы является сведение их в некую единую информационную модель, которая бы позволила применять методы автоматизированного представления и анализа. С учётом того, что основная масса данных имеет пространственную и временную локализацию, логичным представляется использование методов геоинформатики для формирования такой модели. При таком подходе основой выступает карта изучаемой (мониторируемой) территории, где отдельные пространственные элементы (населённые пункты, административные образования) играют роль объектов, в качестве атрибутивной информации, помимо прочего, принимающие данные об эпидемиологическом состоянии. Такими данными могут служить регистрации случаев заболевания той или иной инфекцией, случаи вспышек заболеваемости и т. д. И если для решения задач анализа и прогнозирования к подобного рода данным предъявляются достаточно жёсткие требования (например, длительность наблюдений при анализе временной динамики или детальность покрытия территории при выявлении пространственных закономерностей), то для целей систематизации (которая, являясь первым шагом любого анализа, по сути своей и «готовит» материал для дальнейшей с ним работы) требования к качеству и количеству исходных данных существенно ниже. Основной задачей систематизации будет формирование из гетерогенного набора исходной информации (табличной и пространственной) некоторой единой системы хранения и представления.

Одним из способов решения могут послужить электронные атласы. Они представляют собой сборник графической справочной информации (карт, таблиц, диаграмм и т. п.), которая формируется динамически на основе входных данных. В таком динамическом формировании электронного атласа заложено его важное отличие от бумажного аналога, который устаревает ещё до момента выхода в печать. Кроме того, варианты представления имеющихся данных в бумажном атласе, как правило, фиксированы и ограничены целым рядом факторов (таких как объём получаемого издания).

Основная масса первичных данных в эпидемиологии (уровень заболеваемости и т. д.) всегда имеет пространственную привязку (лечебное учреждение, населённый пункт, район, область). Кроме того, в пространстве она распределена неравномерно. Причём неравномерность эта подчиняется тем или иным законам, а не имеет случайного характера. Таким образом, данная информация становится пригодной для выявления законов пространственного распределения того или иного фактора. Здесь на помощь может прийти весь богатый функционал геостатистики, когда для данных, обладающих пространственной привязкой, ис-

пользуются алгоритмы и процедуры статистической обработки. Кроме того, такие данные удобно картировать, т. е. появляется возможность зонирования территории и представления результата в наглядной компактной форме, в виде картосхем.

Данные об эпидемиологическом состоянии от каждой территории поступают с определённой периодичностью (неделя, месяц, год). Таким образом, появляется возможность проводить анализ временного распределения того или иного фактора. А в сочетании с пространственностью мы получаем возможность изучения пространственно-временной динамики явления.

Говоря об эпидемиологическом атласе, мы обычно имеем в виду набор следующего материала:

1. Табличный материал.
2. Диаграммы и графики на основе таблиц.
3. Картосхемы на основе таблиц.
4. Текстовая информация (аналитические отчёты, описания заболеваний и т. д.).

Важным моментом является то, что п. 2 и п. 3 создаются на основе пункта 1 (как правило, оператором атласа). Если в таблицы добавляются новые столбцы (данные), то п. 2 и п. 3 необходимо перерабатывать, что требует усилий и времени. Таким образом, динамика изменений всех 3-х компонент не синхронизирована во времени. Причём не важно, существует ли исходный материал в бумажном или цифровом виде.

С другой стороны, при использовании электронного атласа базой, на основе которой генерируется всё остальное содержимое, является таблица. Процесс построения графиков и картосхем автоматизирован. Таким образом, достаточно изменить данные в таблице, чтобы всё остальное содержимое обновилось.

Существуют две основные проблемы, связанные с электронными атласами. Во-первых, фрагментарность исходных данных. Для качественной работы необходимы полные наборы данных о заболеваниях от территориальных органов. Кроме того, существующие формы отчётности подразумевают генерализацию до уровня субъекта. При этом данные с разрешающей способностью до минимальной единицы (отдельный дом – в случае города, отдельный населённый пункт – в случае области и крупнее) позволили бы проводить более детальный пространственно-временной анализ. Всю необходимую генерализацию можно проводить в процессе обработки.

Кроме того, существует необходимость соблюдать баланс между наглядностью результатов и функциональностью. Большинство систем, использующих геоинформационные подходы, представляет собой проекты на базе той или иной инструментальной ГИС (ArcGIS, MapInfo, QGIS и т. д.). При этом пользователи получают возможность максимально использовать все функции аппарата пространственного анализа и представления результата, реализованные в данном пакете. К мину-

сам такого подхода относится то, что от конечных пользователей требуются, как минимум, базовые знания той системы, в которой проект создавался. Кроме того, для работы с таким проектом требуется и установка самой системы (что требует определенных финансовых вложений). С другой стороны, скрытие от конечного пользователя самого процесса обработки и представления результатов (как в случае с атласами) позволяет расширить круг людей, использующих такой продукт, но при этом они могут использовать только те инструменты обработки и представления данных, которые заложены разработчиком.

Решением может послужить задание основного вектора развития подобных проектов в качестве web-сервисов. При этом снимаются ограничения на доступ к подобным системам (пользователю достаточно иметь любое устройство, оборудованное экраном и доступом в сеть Internet), так и ограничения по функционалу (ядром такого сервиса служит всё та же полнофункциональная инструментальная ГИС).

Примером реализации концепции электронного атласа стал проект «Эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа (ПФО)», реализуемый ФБУН ННИИЭМ им. академика И. Н. Блохиной Роспотребнадзора. Целью проекта является создание эффективной системы мониторинга за развитием эпидемиологического процесса актуальных инфекционных заболеваний в ПФО на основе геоинформационных технологий. В рамках проекта решаются следующие задачи:

- Создание актуальной базы данных по заболеваниям.
- Обеспечение доступности данных.
- Первичный анализ данных в рамках атласа.

Технически атлас реализован в виде веб-сайта, расположенного по адресу www.epid-atlas.ru. Атлас содержит следующие разделы:

1. Санитарно-эпидемиологические правила по профилактике заболеваний.
2. Пространственная и временная динамика для заболеваний из списка наиболее актуальных в ПФО для следующих территорий:
 - а. Административные субъекты ПФО (с привязкой к территориям и годам регистрации).
 - б. Районы Нижегородской области (с привязкой к территориям и годам регистрации).
 - в. Административные районы г. Нижнего Новгорода (с привязкой к территориям и годам регистрации).
3. Отдельно сформирован раздел, связанный с ВИЧ-инфекциями:
 - а. Общие данные по ПФО (с привязкой к территориям и годам регистрации).
 - б. Структура мутаций, определяющих резистентность ВИЧ-1 к различным группам АРВП (с привязкой к территориям и годам регистрации).
 - в. Распространенность мутаций резистентности ВИЧ-1 к АРВП (с привязкой к территориям и годам регистрации).

- d. Распространенность субтипов ВИЧ-1 в ПФО.

- e. Смертность среди ВИЧ-инфицированных (с привязкой к территориям и годам регистрации).

4. Аналитические данные:

- а. Анализ инфекционной заболеваемости в Приволжском федеральном округе (обновляется ежегодно).

- б. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях в Приволжском федеральном округе (обновляется ежегодно).

Основу атласа составляет база данных SQL, в которой хранится вся информация в виде связанных таблиц. С помощью языка РНР извлекаются данные и формируются сводные таблицы, графики временной динамики и карто-схемы. Особенностью атласа является то, что пользователь всегда имеет возможность получить доступ к исходной табличной информации и, таким образом, не ограничен только теми видами анализа и представления данных, которые заложены в функционал атласа разработчиками.

удк 616.993.193.1-078

Степанова К. Б.

СТРУКТУРА МОНО- И МИКСТ-ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

*ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора,
Тюмень*

Ежегодно в клинику ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора обращается более 25 000 пациентов с полиморфной симптоматикой (диспептический синдром, аллергические проявления, общинтоксикационный синдром, артралгии, миалгии, астенический синдром или сочетания симптомов). С целью дифференциальной диагностики пациентам проводится комплексное обследование крови и кала на наличие различных паразитарных и инфекционных заболеваний.

Сыворотки крови пациентов исследуют методом иммуноферментного анализа на наличие антител к токсоплазмам, лямблиям, описторхам, токсокарам, эхинококку, трихинеллам, цитомегаловирусу, вирусу простого герпеса, вирусу Эпштейн-Барра, вирусу клещевого энцефалита, боррелиям, анаплазмам и эрлихиям (определяли уровень М, G антител) и методом полимеразно-цепной реакции на обнаружение антигена вируса гепатита В и С, токсоплазм, цитомегаловируса, вируса простого герпеса, вируса Эпштейн-Барра. Для диагностики инвазии также использовали методы копроовоскопии (химико-седиментационный и Столла) и микроскопии желчи. Для исследования использовали коммерческие наборы реагентов.

С целью определения частоты встречаемости моно- и микст-заболеваний проведен анализ результатов комплексного обследования 50465 человек. При этом у 8965 пациентов (17,5 %) был подтвержден диагноз паразитарной инвазии. Моноинвазии диагностированы у 7835 (86,0 %) пациентов, различные сочетания микст-патологии – в 1305 случаях (14 %).

Среди обследованных описторхоз выявлен у 2667 человек (29,7 %), из них у 2432 человек выявлена хроническая фаза. Токсоплазмоз выявлен у 1415 пациентов. Все случаи токсоплазмоза были отнесены к первично-хронической приобретенной стадии. Лямблиоз диагностирован у 2097 человек. Токсокароз выявлен у 622 человек, у 600 из них диагностирована висцеральная форма, у 22 человека – глазная форма токсокароза.

Среди других инвазий, встречающихся на территории Тюменской области, выявлен энтеробиоз (133 человека), аскаридоз (214 человек), дифиллоботриоз (43 человека), эхинококкоз (49 человек), дирофиляриоз (4 случая), тениоз (5 случаев), тениаринхоз, гименолипедоз, трихоцефалез (по 3 случая), амебиаз, фасциолез, трихинеллез (по 1 случаю).

Среди больных с микст-патологией наиболее часто встречались сочетания двух паразитозов (1130 человек). Три и более паразитов диагностированы у 175 пациентов.

Наиболее часто встречались сочетания хронического описторхоза (36), хронического приобретенного токсоплазмоза (27 %) и лямблиоза. Так, у пациентов сочетание описторхоза и токсоплазмоза отмечено в 16 % случаев, токсоплазмоза и лямблиоза – в 12 % случаев, описторхоза и лямблиоза – в 12 % наблюдений.

Сочетание паразитозов встречалось среди жителей города (59 %) и сельской местности (41 %), среди взрослого (63 %) и детского населения (37 %).

Нужно отметить, что за последние 5 лет в Тюменской области, по данным официальной статистики, несмотря на сохраняющийся высокий потенциальный риск заражения возбудителем описторхоза, этот гельминтоз имеет тенденцию к снижению.

Тенденция снижения заболеваемости отмечается и среди других паразитарных заболеваний (токсокароз, лямблиоз, дифиллоботриоз), что является результатом многолетнего применения системы мер профилактики, включающей санитарно-просветительную и лечебно-профилактическую работы.

УДК 591.2:599:616.98:579.841.95-022.1:630(571.12)

Таджидинов В. О.

ЗАРАЖЕННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ТУЛЯРЕМИИ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ТАЁЖНОЙ ЗОНЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

*ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора,
Тюмень*

Туляремия – природно-очаговый зооноз, регистрируемый практически во всех субъектах Российской Федерации. Тюменская область относится к территориям, неблагоприятным по заболеванию туляремией. Среди населения Сибири и Дальнего Востока в период января–октября 2013 г. было зарегистрировано 1023 случая заболевания туляремией (Косилко С. А., Балахонова С. В. и др., 2014). Из них в ХМАО – 1014 случаев (47,4 ‰), Кемеровской области – 4 (0,15 ‰), Новосибирской области – 1 (0,04 ‰), Сахалинской области – 2 (0,4 ‰) и Еврейской АО – (1,1 ‰). Уровень зараженности мелких млекопитающих в ХМАО, отловленных осенью 2013 г., составил 53,6 %. По данным А. П. Зуевского (Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области) и А. Я. Лукаса (Центр гигиены и эпидемиологии в г. Ханты-Мансийске), на большей части ХМАО активны природные очаги пойменно-болотного типа. Основными резервуарами и источниками инфекции на территории области являются мелкие грызуны, насекомоядные, а также иксодовые клещи, блохи и комары. Для эпидемиологии туляремии характерна множественность механизмов заражения и путей передачи возбудителя (трансмиссивный, контактный, алиментарный, аспирационный). У человека это острое инфекционное заболевание обусловлено как общими проявлениями болезни (повышение температуры, головная боль), так и характерным воспалением лимфатических узлов и прилежащих к ним тканям (образованием бубона).

Исследовали материал (мелкие млекопитающие, комары и блохи), полученный в ходе двух экспедиций: в 2012 г. – в подзону северной тайги, в окрестности г. Ноябрьска (ЯНАО), а в 2013 г. – в подзону южной тайги, окрестности озера Кучак (Нижнетавдинский район) и очаг туляремии в ХМАО – Югру.

Мелких млекопитающих отлавливали стандартными методами ловушко-линий (давилки Геро и живоловки) в летне-осенний период (август–сентябрь). В подзоне северной тайги было отловлено 83 особи зверьков, относившихся к 7 видам. Из них полевка красная (*Myodes rutilus*) составила 69,8 %, полевка-экономка (*Microtus oeconomus*) – 6,1 %, бурундук азиатский (*Tamias sibiricus*) – 3,6 %

и бурозубки (*p. Sorex*) – 20,5 %. В подзоне южной тайги отловлено 92 особи, представители 7 видов (полевка рыжая (*Myodes glareolus*) – 86,9 %, полевка красная (*Myodes rutilus*) – 7,7 %, мышшь лесная (*Apodemus uralensis*) – 1,1 %, бурозубки (*p. Sorex*) – 4,3 %). Из очага туляремии, в ХМАО исследовано 43 особи мелких млекопитающих, относящихся к 7 видам (полевка красная (*Myodes rutilus*) – 51,2 %, мышшь домовая (*Mus musculus*) – 30,2 %, крыса серая (*Rattus norvegicus*) – 6,9 %, полевка-экономка (*Microtus oeconomus*) – 4,6 %, бурозубки (*p. Sorex*) – 7,1 %). Исследовано 56 блох, счесанных с микромаммалий и 100 комаров. Зверьков стерильно вскрывали и извлекали внутренние органы (печень и селезенка). Антиген возбудителя туляремии (*Francisella tularensis*) выявляли в пробах внутренних органов, гомогенате блох и комаров методом иммуноферментного анализа (ИФА) наборами реагентов «ИФА-Тул-СтавНИПЧИ» производства ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.

При исследовании внутренних органов мелких млекопитающих, отловленных в окрестностях г. Ноябрьска, туляремийный антиген был обнаружен в пробах двух полевок красных (*Myodes rutilus*) (2,4±1,7 %). Положительный результат на присутствие антигена туляремии получен при исследовании проб печени и селезенки от двух полевок красных, отловленных в окрестностях озера Кучак (2,2±1,5 %). Антиген туляремии обнаружен в органах зверьков, отловленных в ХМАО у 4 особей (9,3±4,4 %): из проб селезенки бурозубки равнозубой (*Sorex isodon*) и бурозубки средней (*Sorex caecutiens*), из проб печени мышши домовая и бурозубки обыкновенной (*Sorex araneus*). Туляремийный антиген выявлен в 6 пробах гомогената блох (10,7±4,1 %), счесанных с красных полевок. Комары р. *Aedes* были исследованы пулами по 10 шт. Антиген обнаружен в 7 из них.

Таким образом, в локальных очагах туляремии на территории северной и южной тайги Западной Сибири основную роль в сохранении возбудителя играют полевки – там, где уровень зараженности красных полевок достигает значения 2,2–2,4 %.

При эпидемиологической вспышке в ХМАО основную роль в сохранении инфекции играли представители рода бурозубок, уровень зараженности которых составляет 6,98 %, и мышши домовые с уровнем инфицированности 2,32 %.

УДК 576.8:59

Цапко Н. В.

ОБ УНИФИКАЦИИ НАЗВАНИЙ ТАКСОНОВ НОСИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИКОВ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Формирование баз данных о носителях и переносчиках возбудителей трансмиссивных зоонозов является одной из актуальных задач эпизоотологии. Необходимым условием для сведений, составляющих эти базы данных, должна быть их унификация, не позволяющая разночтение. Первое, что требует согласования, – это таксономический статус изучаемых зоологических объектов, который должен строго соответствовать принципам «Международного кодекса зоологической номенклатуры», основная цель которого – обеспечить максимальную универсальность и преемственность научных названий животных, так чтобы название каждого таксона было единственным и отличным от других.

За последние годы в представлениях о разнообразии различных групп животных (млекопитающих, птиц, иксодовых клещей, блох) произошли заметные изменения. Связаны они не только с уточнением систематического статуса отдельных видов и описанием новых таксонов разных уровней, но и с полной ревизией некоторых систематических групп животных и перестройкой таксономической системы на основе достижений современной молекулярной генетики.

Постоянно возникающая путаница в названиях некоторых проблемных групп животных приводит к неправильному толкованию их таксономического статуса и распространения в определенном регионе. Примеры таксономической перестройки фауны многочисленны. В данной работе уместно остановиться на наиболее значимых эпизоотологических исследованиях.

Весьма запутанной до недавнего времени была систематика группы лесных мышшей (*Sylvaemus*), населяющих Северный Кавказ. Достаточно сказать, что только для трех видов мышшей этой группы существует более 20 синонимов, использовавшихся в различное время. Приведу только наиболее распространенные: *S. uralensis* = *ciscaucasicus*, *microps*, *microtis*, *mosquensis*, *vohlynensis*; *S. witherbyi* = *fulvipectus*, *planicola*, *falzfeini*; *S. ponticus* = *flavicollis*, *argiropuli*. Таксономия лесных мышшей оставалась практически неразработанной, и всех мышшей рода *Sylvaemus* на Кавказе сводили в один вид *Apodemus sylvaticus*. Только привлечение широкомасштабных генетических методов исследования помогло внести ясность в данную проблема-

тику. В результате работ ряда авторов (Воронцов и др., 1992; Картавцева, 2002) удалось установить обитание на Кавказе 4 таксонов видового уровня (три из них населяют Ставропольский край – *S. uralensis*, *S. witherbyi* и *S. ponticus*). Но как показывает практика и обширный литературный материал по данной группе мышей (Загороднюк и др., 1997; Стахеев, Богданов, 2007; Стахеев, 2008; Кулиев и др., 2012), эти виды по совокупности признаков вполне могут быть диагностированы и в поле. Данное замечание касается и других групп криптических видов млекопитающих: обыкновенная полевка (*Microtus arvalis*) – восточноевропейская полевка (*M. rossiaemeridionalis*), домовая мышь (*Mus musculus*) – курганчиковая мышь (*M. spicilegus*), кустарниковая полевка (*Terricola majori*) – дагестанская полевка (*T. daghestanicus*). Все эти виды (за исключением курганчиковой мыши) обитают и на Северном Кавказе, но из-за сложностей в идентификации при зоологических исследованиях «двойники» часто выпадают из фауны региона.

Кроме обозначенных выше таксономических изменений фауны млекопитающих Северного Кавказа, следует остановиться еще на некоторых.

Как пример можно указать две пары видов двойников: обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*) – кавказская бурозубка (*Sorex satunini*) и малая бурозубка (*Sorex minutus*) – бурозубка Волнухина (*Sorex volnuchini*). До применения кариологических и молекулярно-генетических методов эти 4 вида рассматривались в рамках двух видов с приданием статуса подвидов популяциям, обитающим в Предкавказье и на Кавказе. В литературе и по настоящее время встречаются сообщения об обитании на Кавказе обыкновенной и малой бурозубок. В действительности же эти сведения должны относиться к бурозубкам кавказской и Волнухина. Стоит оговориться, что лишь недавно было установлено (доказано на молекулярном уровне) совместное обитание этих криптических видов в Приазовье (зап. Предкавказье) (Стахеев и др., 2010).

Еж южный (*Erinaceus roumanicus*) до недавнего времени, рассматривавшийся в составе белогрудого ежа (*E. concolor*), благодаря морфологическим и молекулярно-генетическим исследованиям возведен в видовой ранг, а обитание на Российской части Кавказа белогрудого ежа пока не доказано. Аналогичные изменения произошли в роде мышовок (*Sicista*). Ранние указания об обитании на Северном Кавказе лесной мышовки (*S. betulina*) в действительности относятся к ее виду-двойнику – мышовке Штранда (*S. strandi*), а ареал первой ограничивается центром Европейской части России. По-прежнему дискуссионным остается вопрос о статусе горного суслика (*Spermophilus musicus*), которого одни авторы признают подвидом малого суслика (*S. pygmaeus*), а другие (в том числе и некоторые зарубежные исследователи) возводят в ранг вида. Согласно последней сводке (Павлинов,

Лисовский, 2012), горный суслик трактуется как полувид в составе надвида «*pygmaeus*». Как видно, наиболее часто изменения затрагивают видовое название таксона. Перестройки на уровне рода более редки и в последние годы коснулись упомянутых выше лесных мышей (*Sylvaemus*) и кустарниковых полевок (*Terricola*), трактовавшихся ранее в ранге подродов рода *Apodemus* и *Microtus* соответственно.

Не менее масштабной ревизии подверглась таксономия и кровососущих членистоногих – блох и иксодовых клещей.

У восьми видов иксодовых клещей (из 36 населяющих Северный Кавказ) изменилось видовое название (*Ixodes plumbeum* – на *Ixodes lividus*, *Haemaphysalis warburtoni* – на *Haemaphysalis pospelovastromae*, *Haemaphysalis otophila* – на *Haemaphysalis parva*, *Haemaphysalis numidiana* – на *Haemaphysalis erinacei*, *Dermacentor daghestanicus* – на *Dermacentor niveus*, *Boophilus calcaratus* – на *Boophilus annulatus*); а один вид – *Hyalomma detritum* перестал «существовать» как самостоятельный и переведен в ранг экологической формы широко распространенного *Hyalomma scupense* (Апанаскевич, Филиппова, 2007).

Эпизоотологическое и эпидемиологическое значение блох определило к ним интерес специалистов различных стран мира. Вследствие этого фауна отряда изучена достаточно подробно. Вместе с этим систематика отряда блох и схема деления его на таксоны, а иногда и состав этих таксонов в трактовке отечественных определителей существенно отличаются от таксономии, принятой в настоящее время большинством отечественных и зарубежных систематиков. Кроме того, в последние десятилетия (уже после выхода региональных определителей блох) специалистами были описаны несколько новых для науки или найдены новые для территорий виды и подвиды этих насекомых.

Некоторые новейшие изменения традиционных таксономических названий видов не находят отражение в современных исследованиях, и часть авторов продолжает придерживаться устаревших таксономических названий в своих публикациях. Вследствие этого отдельные виды (включая даже основных носителей и переносчиков возбудителей трансмиссивных зоонозов) встречаются под разными названиями, создавая путаницу при анализе материалов эпизоотологических обследований энзоотических территорий. При цитировании устаревших источников целесообразно менять названия таксонов, бытовавших ранее, на вновь им присвоенные. Пример: *Apodemus fulvipectus* – на *Sylvaemus witherbyi*, *Hyalomma plumbeum* – на *Hyalomma marginatum*, *Dermacentor pictus* – на *Dermacentor reticulatus*.

В заключение для руководства можно рекомендовать следующие определители, справочники, списки и каталоги, отражающие наиболее современные взгляды на таксономическую структуру исследуемых групп животных. Для млекопитаю-

щих это – систематико-географический справочник «Млекопитающие России» И. Я. Павлинова и А. А. Лисовского (2012), для птиц – «Список птиц Российской Федерации» Е. А. Коблика, с соавт. (2006), для иксодовых клещей – справочник-определитель «Иксодовые клещи подсем. *Amblyomminiinae*» Н. А. Филипповой (1997), для блох – «Классификация отряда блох (*Siphonaptera*) и ее теоретические предпосылки» С. Г. Медведева (1998), «Список видов и подвидов блох России и сопредельных стран» А. И. Гончарова, с соавт. (2012), «Каталог блох (*Siphonaptera*) фауны России и сопредельных стран» Б. К. Котти (2013).

УДК 519.25

Чигвинцев В. М.

**МЕТОДИКА ОЦЕНКИ
ИНФЕКЦИОННОЙ
ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ,
АССОЦИИРОВАННОЙ
С КАЧЕСТВОМ СРЕДЫ
ОБИТАНИЯ**

*ФБУН «Федеральный научный центр
медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью
населения» Роспотребнадзора,
Пермь*

Введение. На протяжении последних десятилетий наблюдается увеличение вклада инфекционной заболеваемости в общую заболеваемость среди всех возрастных групп. Становится актуальной задача по нахождению оптимальных способов снижения заболеваемости. Для разработки методик снижения необходимо выделить преобладающие действующие причины. В качестве вероятных факторов, влияющих на количество инфекционных заболеваний, можно выделить: химические и биологические показатели среды обитания, социально-экономическое состояние территории и прививочные мероприятия. Анализ вкладов этих факторов позволит выявить основные причины наблюдаемой ситуации и определить приоритетные пути ее решения.

Целью данной работы является разработка алгоритма нахождения зависимостей между инфекционной заболеваемостью и различными показателями среды обитания с оценкой их значимости.

Материалы и методы. Для проведения исследования был использован объединенный массив из нескольких источников официальных данных. Информация получена в рамках проведения социально-гигиенического мониторинга и на основании государственной статистической отчетности за 2010–2012 гг. Состояние здоровья населения характеризовалось статистическими данными

по инфекционной заболеваемости в субъектах РФ по отдельным нозологическим формам, в различных возрастных группах. Показатели иммунитета населения характеризовались статистическими данными по вакцинальным мероприятиям в субъектах РФ по отдельным нозологическим формам в разрезе различных возрастных групп. Среда обитания описывалась двумя группами факторов: санитарно-гигиеническими факторами по отдельным объектам (атмосферный воздух, питьевая вода, почва), характеризующими безопасность среды обитания, и социально-экономическими факторами, характеризующими качество жизни населения.

В результате объединения различных источников данных был получен неполный массив данных. Зачастую территории, для которых имеется информация не по всем интересующим нас показателям, просто отбрасываются. Такой способ решения проблемы является самым простым и признается корректным для массивов, собранных на большой выборке. Вместе с тем такой шаг может привести к смещениям, в том случае если пропуски не случайны, а характерны для определенного вида территории.

Более обоснованное решение проблемы неполных данных видится в восстановлении пропущенных значений на основании тех или иных представлений о природе этих значений. Одним из таких способов является алгоритм ближайших соседей. Он относится к простым неитерационным методам восстановления пропущенных данных. В основе методики ближайших соседей лежит предположение, что если объекты близки по значениям $n-1$ показателей, то они близки по значению n -ого показателя.

С целью устранения зависимых показателей и уменьшения независимых переменных проводится факторный анализ. При анализе сильно коррелирующие между собой переменные объединяются в один фактор. После объединения коррелированность показателей внутри каждого фактора между собой будет выше, чем их коррелированность с показателями из других факторов. Для выявления наиболее значимых факторов и, как следствие, факторной структуры, наиболее оправданным представляется применение метода главных компонент. Суть данного метода состоит в замене коррелированных показателей некоррелированными факторами. Другой важной характеристикой метода является возможность ограничиться наиболее информативными главными компонентами, исключив из анализа остальные, что упрощает интерпретацию результатов.

Для связи инфекционной заболеваемости с различными факторами среды обитания была использована стандартная многомерная линейная регрессионная модель. Выбор модели был сделан на основании исследовательского анализа данных и предварительных знаний о взаимосвязи между заболеваемостью и влияющими факторами. Ко-

эффиценты модели были получены с помощью метода наименьших квадратов.

Результаты и обсуждение. Проведено восстановление пропущенных данных с помощью метода ближайших соседей; при использовании метода в рассмотрение брались 10 ближайших соседей. Для строк данных, в которых отсутствует более 50 % информации, брались средние значения по показателю. Из анализа было исключено 13 показателей, т. к. в них отсутствует более 60 % данных и представленный алгоритм не подходит для их восстановления. В результате на выходе получен полный массив данных, пригодный для дальнейших этапов анализа.

Факторный анализ был проведен по данным о качестве среды обитания (по химическим веществам) и по данным о социально-экономическом состоянии территории. Анализ позволил выделить 10 факторов, характеризующих химическую составляющую, и 4 фактора, характеризующих социально-экономическую составляющую. Химические показатели вошли в следующие факторы: химический фактор № 1 (азотосодержащие неорганические соединения в воздухе), химический фактор № 2 (тяжелые металлы в воздухе), химический фактор № 3 (тяжелые металлы в почве), химический фактор № 4 (тяжелые металлы в воде), химический фактор № 5 (хлоросодержащие неорганические соединения в воде), химический фактор № 6 (ароматические углеводороды), химический фактор № 7 (фторсодержащие соединения), химический фактор № 8 (хлорсодержащие соединения в воде), химический фактор № 9 (железосодержащие соединения в воде), химический фактор № 10 (пыль и углеводороды в воздухе). Социально-экономические показатели составили следующие факторы: соц.-экономический фактор № 1 (уровень развития социальной инфраструктуры), соц.-экономический фактор № 2 (условия быта населения), соц.-экономический фактор № 3 (уровень жизни населения), соц.-экономический фактор № 4 (уровень социально-экономического развития территории).

В результате многомерного линейного регрессионного моделирования с использованием обработанных данных был получен ряд уравнений, связывающих заболеваемость и показатели среды обитания, социально-экономическое состояние территорий и прививочные мероприятия. При моделировании использовался лаг в один год по ревакцинации, социальным и химическим факторам.

Ниже в качестве примера приведены четыре модели, в которых влияние на заболеваемость описывается с помощью различного сочетания исходных описываемых факторов.

Уравнение, описывающее заболеваемость краснухой, записывается в следующем виде:

$$y_1 = 1.9 - 0.00065 \cdot x_1 + 0.48 \cdot x_2^2 \quad (1)$$

где y_1 – заболеваемость краснухой на 100 тыс.

населения; x_1 – ревакцинация населения от краснухи на 100 тыс. населения; x_2 – химический фактор № 3.

Доля вклада химического фактора № 3 (в него входит такой показатель, как ртуть в почве) в 2012 году составила 0,2 %, что может говорить о малом влиянии факторов среды обитания на заболеваемость краснухой. Основным действующим фактором являются мероприятия по ревакцинации населения от краснухи.

Уравнение, описывающее заболеваемость коклюшем, записывается в следующем виде:

$$y_2 = -43.1 + 54272 \cdot \frac{1}{x_1} + 17.6 \cdot e^{x_2} + 17.6 \cdot e^{x_3} + 17.9 \cdot x_4 \quad (2)$$

где y_2 – заболеваемость коклюшем на 100 тыс. населения; x_1 – ревакцинация населения от коклюша на 100 тыс. населения; x_2 – соц.-экономический фактор № 2; x_3 – химический фактор № 8; x_4 – химический фактор № 9.

Основным влияющим фактором являются мероприятия по ревакцинации населения от коклюша. Сравнимый вклад вносят социально-экономический фактор № 2 (в него входит такой показатель, как процент квартир, не имеющих канализации) и химический фактор № 8 (в него входит такой показатель, как хлор в воде). Вклад химического фактора № 9 (в него входит такой показатель, как железо (включая хлорное железо) в воде) незначителен.

Уравнение, описывающее заболеваемость лямблиозом, записывается в следующем виде:

$$y_3 = 236.3 + 17.5 \cdot x_1 - 10.3 \cdot e^{x_2} + 1239.2 \cdot x_3^2 \quad (3)$$

где y_3 – заболеваемость лямблиозом на 100 тыс. населения; x_1 – микробиологические показатели в почве; x_2 – соц.-экономический фактор № 3; x_3 – соц.-экономический фактор № 4.

На первом месте по вкладу стоит показатель, отражающий процент количества проб почвы с превышением по микробиологическим показателям. На втором месте – социально-экономический фактор № 3 (в него входит такой показатель, как среднемесячная номинальная начисленная заработная плата работающих в экономике). Последнее место занимает социально-экономический фактор № 4.

Уравнение, описывающее заболеваемость сальмонеллезными инфекциями, записывается в следующем виде:

$$y = 56.1 + 26.5 \cdot e^{x_1} + 29.9 \cdot x_2 + 130.3 \cdot e^{x_3} \quad (4)$$

где y – заболеваемость другими сальмонеллезными инфекциями на 100 тыс. населения; x_1 – соц.-экономический фактор № 2; x_2 – химический фактор № 3; x_3 – химический фактор № 4.

Основной вклад осуществляется химическим фактором № 4 (в него входит такой показатель, как свинец в воде). На втором месте стоит вклад

социально-экономического фактора № 2. Незначительный вклад вносит химический фактор № 3.

Выводы. Представленный алгоритм позволяет определять доли вкладов химических и биологических показателей среды обитания, а также показателей социально-экономического состояния территории и прививочных мероприятий в инфекционную заболеваемость. Это позволяет выявить приоритетные пути по решению задачи снижения инфекционной заболеваемости. В данной статье возможность применения этого алгоритма для определения вкладов факторов в заболеваемость показана на примере различных вирусных и бактериальных нозологий. Необходимо отметить, что выявленное влияние факторов является непрямым: есть промежуточное звено – функциональная способность иммунной системы организма человека. Нахождение связей между непосредственным состоянием иммунной системы и факторами среды обитания, а также влияние состояния иммунной системы на инфекционную заболеваемость является одним из направлений дальнейшей работы.

Метод позволяет увеличить действенность санитарно-гигиенических мероприятий по предупреждению и устранению вредного воздействия факторов среды обитания и других факторов на здоровье населения за счет обоснования и своевременного проведения профилактических мероприятий по снижению инфекционных заболеваний и обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия.

УДК 579.841.95:616.9-022(470.630)

**Шкарлет Г. П., Дегтярева Л. В.,
Левченко Б. И., Остапович В. В.,
Муратова М. В.**

ЛАНДШАФТНО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИРОДНОГО ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Территория Ставропольского края разделена на ландшафтно-географические зоны: полупустынная, степная, лесостепная и предгорная. В пределах этих зон функционирует природный очаг туляремии. Изменения климата и антропогенная трансформация ландшафта природного очага туляремии существенно влияют на зональное распределение носителей и переносчиков возбудителя, флуктуацию показателей их численности и видовой структуры, соответственно с этим

и на их эпизоотическое значение. В свою очередь, все это приводит к изменению функциональной структуры очага, которая определяет его эпизоотическую активность.

Настоящая работа основана на анализе результатов многолетних эколого-эпизоотологических наблюдений, проведенных в период с 1972 г. по 2013 г.

Эпизоотические проявления туляремии разной интенсивности в популяциях мелких млекопитающих регистрировали в большинстве административных районов края. Эпизоотии, возникающие в природном очаге, имеют тенденцию к перемещению по территории и во времени не постоянны, т. к. различные факторы окружающей среды накладывают определенный отпечаток на структуру биоценоза и динамику течения эпизоотического процесса. Как правило, эпизоотии туляремии среди мелких млекопитающих сопровождаются эпидемическими осложнениями различной интенсивности и наблюдаются с момента открытия природного очага в 1938 г.

Ландшафтно-географические зоны, на территории которых установлен Ставропольский природный очаг туляремии, по характеру распространения, стойкости проявления туляремии, степени потенциальной эпизоотической и эпидемической опасности неравнозначны. Это связано с неодинаковым и разносторонним антропогенным прессом, влияющим на природные ландшафтные комплексы, которые определяют структуру биоценозов, что сказывается на условиях существования видов и изменении самой видовой структуры носителей возбудителя туляремии. Сезонные условия, состав растительности, особенности почв и наличие кормовой базы определяют приуроченность мелких млекопитающих различных видов к тем или иным биотопам, которые более всего соответствуют их экологическим требованиям. Поэтому в зависимости от сезонных факторов в биотопах формируется разная структура населения носителей и переносчиков возбудителя микроба туляремии, возникает необходимость дифференцированного подхода к организации эпизоотологического и эпидемиологического надзора, к проведению профилактических мероприятий в природном очаге.

Тактические и методологические приемы сбора полевого материала и лабораторного обеспечения эпизоотологического обследования природно-очаговых по туляремии территорий должны определяться их информативностью на поиск и выявление как локальных, так и разлитых эпизоотий, имеющих наибольшее эпидемиологическое значение. Это позволит рационально использовать кадровые и материально-технические ресурсы и возможность обеспечения эпидемиологического благополучия по туляремии за счет целенаправленного проведения санитарно-профилактических мероприятий на наиболее опасных участках очаговой территории.

Дифференциация эпизоотически значимых

естественных биотопов и агроценозов на территории Ставропольского края по степени воздействия антропогенных факторов позволила определить 3 группы: 1 – биотопы, в малой степени подверженные сельскохозяйственной деятельности человека, – лесополосы и целинные участки; 2 – биотопы, подвергающиеся антропогенному воздействию с промежутками в несколько лет, – посевы многолетних трав; 3 – биотопы, подвергающиеся интенсивной сельскохозяйственной деятельности, где условия существования мелких млекопитающих в течение года резко и неоднократно изменяются, – посевы зерновых и пропашных культур.

На основании многолетних данных об эпизоотической активности природного очага туляремии, расположенного на территории трех ландшафтно-географических зон Ставропольского края, с учетом их эпизоото-эпидемической опасности представляется необходимым и целесообразным определить 3 стационарных участка (СУ) - в Андроповском, Изобильненском и Шпаковском районах, а также 3 пункта многолетних наблюдений (ПМН), расположенных в Ипатовском, Петровском и Красногвардейском районах.

Многолетнее комплексное изучение туляремии позволяет дифференцировать административную территорию края по степени эпизоото-эпидемиологической опасности на 3 зоны.

1. Условно-безопасная зона – зона, в которой случаи заболевания среди людей не регистрируются, но эпизоотические проявления инфекции установлены серологическими и молекулярно-биологическими методами.

К этой зоне отнесены районы: Новоалександровский, Труновский, Новоселицкий, Георгиевский, Кировский, Степновский, Курский, Буденновский. Занимаемая площадь – около трети территории края.

2. Угрожаемая зона – зона, где имеются мало-

активные эпизоотические проявления туляремийной инфекции и регистрируются единичные спорадические случаи заболевания туляремией среди людей.

Эта зона имеет промежуточное положение по опасности инфицирования людей туляремией. Потенциально энзоотичная территория находится в пяти административных субъектах, находящихся на севере и в центре края: Апанасенковский, Туркменский, Аргирский, Благодарненский и Александровский.

3. Реально опасная зона – зона, где имеются активные природные очаги туляремии, районы, на территории которых практически ежегодно регистрируют заболеваемость туляремией среди населения. Зона наиболее эпидемически опасна и представлена территорией административных районов в западной части Ставропольского края: Красногвардейский, Ипатовский, Изобильненский, Шпаковский, Грачевский, Петровский, Кочубеевский, Андроповский, Минераловодский и Предгорный районы. На эту группу приходится 91,5 % всех больных туляремией.

На территории 3-й зоны находятся пять небольших по площади микроочагов туляремии: «Сенгилеевский», «Филимоновский», «Тоннельный», «Сергиевский» и «Воровсколесский». Такие участки стойкой очаговости туляремии обеспечивают эпизоотическую и эпидемическую напряженность.

С целью выявления новых участков стойкой очаговости туляремии (микроочагов) рекомендуется: проводить постоянный эколого-эпизоотологический мониторинг, направленный в первую очередь на поиск мест концентрации мелких млекопитающих и переносчиков возбудителя туляремии, сбор зоо-паразитологических данных (состояние популяций основных носителей и переносчиков, фенология, динамика численности и т. д.) и выявление начала новой активизации очага.

II. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ГЕНОМА В ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

УДК 578.53

Антипова А. Ю., Останкова Ю. В.,
Лаврентьева И. Н., Семёнов А. В.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ ПАРВОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА B19 (PRIMATE ERYTHROPARVOVIRUS 1)

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург

Парвовирусная инфекция широко распространена и регистрируется в разных странах. Эпидемиологический надзор за этой инфекцией в РФ находится в стадии становления. Одним из ключевых этапов надзора является молекулярно-генетический анализ изолятов парвовируса B19 для выявления эндемичных и заносных случаев инфекции.

В настоящее время в мире циркулирует 3 основных генотипа парвовируса человека B19 (PV B19). Генотип 1 распространён повсеместно и показан наибольшим числом изолятов, которые распределяются по двум группам: 1А (JN211121) и 1В (DQ357064); в западном полушарии превалирует генотип 1А. Генотип 2 выявлен в Европе, Бразилии, Вьетнаме и Южной Африке и в настоящее время не имеет подгрупп (AY064476). Генотип 3 обнаружен во Франции, Бразилии, Вьетнаме, Южной Африке и Гане, включает кластеры 3А (AJ249437) и 3В (AY083234). В настоящее время отсутствует единый протокол генотипирования диких штаммов PV B19.

Целью работы стала оптимизация и апробация различных методических подходов к генотипированию парвовируса человека B19 и определение филогенетического положения изолятов, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО).

Генотипирование PV B19 проводили по локусу NS1-VP1u (994 п.о.), включающему фрагмент неструктурного гена NS1 и уникальную область структурного гена VP1, а также наиболее полно характеризующему филогенетическое положение изолятов. В ходе работы были найдены оптимальные условия генотипирования PV B19. Методы пробоподготовки, условия реакций и праймеры для амплификации и секвенирования были использованы как описанные в литературе, так и подобранные в данной работе.

Исследованы клинические образцы, полученные от больных с экзантемными заболеваниями, проживающих на разных территориях СЗФО. Из

34 сывороток крови и 7 ротоглоточных смывов, в которых методом ПЦР («АмплиСенс®Parvovirus B19-FL», ЦНИИЭ) обнаружена ДНК PV B19, были отобраны 9 и 4 образца соответственно, с наибольшей вирусной нагрузкой для последующего секвенирования. Последовательности локуса NS1-VP1u были определены в семи сыворотках крови и одном ротоглоточном смыве (JX435809). Все последовательности депонированы в коллекцию GenBank (Национальный институт здоровья, США): изоляты JX435809, JX644427, JX644428 выделены от больных из Санкт-Петербурга; JX644429 – из Республики Коми; JX644426 – из Калининградской области; JX644430, JX644431 и JX644432 – из Архангельской области.

Филогенетический анализ полученных последовательностей с изолятами из РФ и геновариантами, маркирующими 3 известных генотипа PV B19, был выполнен в режиме реального времени на сайте <http://www.phylogeny.fr> (Guindon S., 2003; Dereeper A., 2008; Dereeper A., 2010; Chevenet F., 2006).

Использованы штаммы из России: RUS1, RUS10, RUS11, RUS12, RUS21 (accession number FN295727, FN295728, FN295729, FN29573, FN295731 соответственно), депонированные в 2009 г., и геноварианты из г. Нижнего Новгорода (JQ518457, JQ518458, JQ518459, JQ518460, JQ518461, JQ518462, JQ518463 и JQ518464) – депонированные в 2012 г.

Все штаммы, обнаруженные на территории РФ, относятся к 1А генотипу. Российские изоляты составляют 2 подгруппы, условно обозначенные как RUS1 и RUS21. Изоляты, полученные в данной работе, относятся к кластеру RUS1. Полученные результаты коррелируют с данными других авторов: распределение по 2 кластерам внутри 1А генотипа (1a1 и 1a2) было показано для штаммов парвовируса B19 из Дании (Molenaar-de Backer M. W., et al., 2012). Группа близкородственных изолятов RUS1 группируется с субтипом 1a2 (JN211122), а кластер RUS21 соотносится с субтипом 1a1.

Таким образом, в России циркулируют штаммы наиболее распространенного генотипа парвовируса B19 1А. Изоляты, циркулирующие в Северо-Западном федеральном округе, близкородственны и группируются в кластер RUS1.

Апробированный методический подход может быть использован в системе эпидемиологического надзора за парвовирусной инфекцией.

УДК: 579.61

**Афанасьев М. В., Кравец Е. В.,
Такайшвили В. Е., Дугаржапова З. Ф.,
Балахонов С. В.**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ
BACILLUS ANTHRACIS,
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ
НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ
И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА**

*ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск*

Введение. Сибирская язва – особо опасное инфекционное заболевание, относящееся к группе зоонозов, вызываемое спорообразующим грамположительным микроорганизмом *Bacillus anthracis*. Спектр восприимчивых к данному возбудителю видов млекопитающих очень широк и включает, в том числе, травоядных животных и человека. Человек вовлекается в инфекционный процесс преимущественно за счет контакта с инфицированными животными и контаминированными продуктами животноводства.

Распространение *B. anthracis* в мире чрезвычайно широко, но благодаря наличию комплекса эффективных профилактических мероприятий заболеваемость сибирской язвой в большинстве развитых стран не регистрируется или носит спорадический характер. Однако инфекция остается актуальной проблемой для некоторых регионов мира: Средиземноморья, США, Канады, центрально- и южноафриканских стран, Монголии, Китая и России. Так, на территории Сибирского и Дальневосточного регионов Российской Федерации на протяжении последних 10 – 15 лет практически ежегодно регистрируются вспышки среди сельскохозяйственных животных и случаи заболевания людей. На территории Сибири находятся более 5600 так называемых стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (включая скотомогильники), которые могут рассматриваться как постоянные источники инфекции.

В связи с этим в системе эпидемиологического надзора и профилактики сибирской язвы очевидна необходимость дальнейшего совершенствования и внедрения новейших современных диагностических и идентификационных методик, обеспечивающих не только своевременное выявление возбудителя в исследуемом материале, но и его углубленное изучение, связанное с определением его специфических характеристик, обуславливающих клиническую значимость и позволяющих установить степень родства изучаемых штаммов для выявления потенциальных источников, путей и факторов передачи инфекции.

Цель работы – изучить молекулярно-генети-

ческое разнообразие штаммов *B. anthracis*, изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке с использованием комплекса современных молекулярно-генетических и масс-спектрометрических методов анализа.

Материалы и методы. В работе исследовалось 30 штаммов *B. anthracis*, выделенных в процессе эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга на территории Сибири и Дальнего Востока с 1959 по 2012 г. Исследованная выборка включала восемь штаммов, изолированных от больных, 13 – от домашних и диких животных, девять – из объектов окружающей среды (почва). Четыре вакцинных штамма использовались в качестве контрольных.

Выделение и микробиологическая характеристика штаммов выполнялась общепринятыми стандартными методами, регламентированными соответствующими нормативно-методическими документами. ДНК для молекулярно-генетических исследований выделялась с использованием набора «ДНК-сорб-В» (№ К1-2-50, ООО «ИнтерЛабСервис», г. Москва). Для выявления плазмид рХО1 и рХО2 применялась ПЦР-тест-система с детекцией в реальном времени «AmpliSens® Bacillusanthracis-FRT» (№ TR-B41(RG), ООО «ИнтерЛабСервис», г. Москва).

Мультилокусный анализ варибельности числа tandemных повторов (VNTR-типирование) осуществлялся по 15 варибельным локусам *vrrA*, *vrrB1*, *vrrB2*, *vrrC1*, *vrrC2*, *CG3*, *pX01aat*, *pX02at*, *BaVNTR12*, *BaVNTR16*, *BaVNTR17*, *BaVNTR19*, *BaVNTR23*, *BaVNTR32* и *BaVNTR35*. Для амплификации варибельных локусов использовали олигонуклеотидные праймеры, меченные флуоресцентными метками (FAM, R6G и ROX). Размер полученных ампликонов определялся методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония) путем сравнения с маркером молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ Size Standard (№ 4322682, Applied Biosystems, США). Исходя из размера (в п.о.) получаемого ампликона определялось число tandemных повторов в каждом из 15 исследованных локусов.

Для масс-спектрометрического анализа одну бактериологическую петлю (1 мм) чистой 12-14 часовой культуры суспендировали в деионизованной воде с последующей инкубацией в 80 % растворе трифторуксусной кислоты (ТФУ). Полученные экстракты переносились в лунки MSP-чипа, подсушивались на воздухе, сверху наносился 1 мкл насыщенного раствора матрицы (α -Циано-4-Гидроксикоричная кислота в 50 % ацетонитрила и 2,5 % ТФУ). В качестве калибровочного стандарта и положительного контроля анализа использовался белковый экстракт штамма *E. coli* DH5a (ref. № 255343; BrukerDaltonics, Германия). Спектры собирались в автоматическом режиме на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF

(BrukerDaltonics, Германия) с использованием программы FlexControl (ver. 3.3, build 108). Анализ спектров, генерация библиотек и идентификация выполнялись с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0 (BrukerDaltonics, Германия).

Для биоинформационного анализа данных генотипирования и масс-спектрометрии использовался программный комплекс Bionumerics v 6.6 (AppliedMaths, Бельгия). Проводилось сравнение результатов генотипирования исследованных штаммов с данными 15-локусного VNTR-типирования глобальной выборки из 221 штамма *B. anthracis*, полученными M.N. van Ert с соавт. [M.N. van Ert et al., 2007].

Результаты. Все исследуемые штаммы демонстрировали типичные для возбудителя сибирской язвы морфологические, тинкториальные и биохимические свойства. У 25 исследованных штаммов обнаружен полный набор плазмид, ассоциированных с вирулентностью. Восемь штаммов, включая четыре вакцинных, не имели плазмиды pXO2. У одного штамма плазмид не обнаружено.

В процессе VNTR-анализа идентифицирован 21 VNTR-профиль, при этом 13 из них были уникальными [13/21; 61,9 %], т.е. встречались у одного штамма в выборке. Двадцать один штамм группировался в девять кластеров. Аллельный полиморфизм VNTR-локусов варьировал в широких пределах, от 0.34 до 0.76. Три локуса, pXO2at, BaVNTR16 и BaVNTR17, демонстрировали наибольший полиморфизм (0.76, 0.71 и 0.66 соответственно). Дискриминирующая способность 15-локусного VNTR-анализа составила 0.957. Вспышечные штаммы имели типичный для своей вспышки VNTR-профиль. Сравнение данных VNTR-анализа сибирских и дальневосточных штаммов с VNTR-профилями штаммов глобальной коллекции обнаружило, что исследованная нами выборка наиболее схожа со штаммами, образующими т.н. каноническую SNP группу A.Br.008/009, однако формирует отдельную ветвь, состоящую из трех основных клональных комплексов.

Методом MALDI-ToF масс-спектрометрического анализа исследовано 14 штаммов из выборки. В процессе проверки специфической стерильности экстрактов после обработки ТФУ живых клеток не обнаружено: рост возбудителя на селективных питательных средах отсутствовал. Вакцинные штаммы *B. anthracis* ВНИИММиМ 55, Stern34F2, СТИ-1, Ихтиман применялись для создания референсных спектров. С их использованием на основании сравнительного анализа масс-спектрометрических профилей были корректно (индекс соответствия >2,0) идентифицированы все остальные исследуемые штаммы. Результаты кластерного анализа на основе масс-спектрометрических данных соотносились с данными VNTR-кластеризации. Значимых различий спектров в зависимости от плазмидного состава штаммов не обнаружено.

Закключение. Возбудитель сибирской язвы,

циркулирующий на территории Сибири и Дальнего Востока, относится к глобальной генетической линии А. Его генетическая близость к A.Br.008/009 SNP-группе может свидетельствовать о возможных путях проникновения и распространения *B. anthracis* в регионе с территории Восточной Европы или Среднего Востока. Продемонстрированный потенциал MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа позволяет рассматривать этот метод не только в качестве идентификационного, но и в качестве дополнительного метода углубленного изучения возбудителя.

УДК 576.895.421:579.841.95:616-078

**Гнусарева О. А., Ковалев Д. А.,
Рыбалко Т. И., Зайцев А. А.**

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО
РАЗНООБРАЗИЯ ШТАММОВ
ТУЛЯРЕМИЙНОГО МИКРОБА,
ЦИРКУЛИРОВАВШИХ В ОЧАГЕ
СТЕПНОГО ТИПА НА ТЕРРИТОРИИ
СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ
В 2003-2013 ГГ.**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

В период 2003–2013 гг. на территориях Петровского, Красногвардейского, Изобильненского, Грачевского, Андроповского и Туркменского районов Ставропольского края были выделены культуры туляремиийного микроба. В результате изучения биологических свойств установлено, что они относились к виду *Francisella tularensis*, подвиду (*subsp.*) *holarctica biovar II, Ery^R*. В 2011 г. из суспензий иксодовых клещей (Предгорный и Изобильненский районы) не удалось выделить туляремиийный микроб; но в них обнаружен антиген туляремиийного микроба, методом ПЦР выявлена ДНК.

Разнообразие ландшафтно-географических условий на территории Ставропольского края предполагает существование различных биоценозов в природных мезоочагах этой инфекции, главным компонентом которых является специфическая популяция возбудителя. В настоящее время методы молекулярно-генетического анализа позволяют как качественно, так и количественно оценивать степень сходства и различия внутривидовых вариантов возбудителей. Это открывает возможности для изучения молекулярно-генетических свойств возбудителя туляремии и оценки его генетического разнообразия.

Природный очаг туляремии степного типа на территории Ставропольского края и прилегающих районов характеризуется общностью циркулирующих в нем штаммов по культуральным свойствам,

но гетерогенных по генетическим свойствам. Анализ штаммов *F. tularensis*, выделенных на территории Ставропольского края, в период с 1948 г. по 1989 г., во время эпизоотий, от мелких млекопитающих, иксодовых клещей и из объектов внешней среды, выявил пять генотипических вариантов (Брюханов А. Ф. с соавт., 2003). Генотипирование штаммов *F. tularensis*, выделенных в период с 1948 по 2004 г., позволило определить штаммы девяти генотипов (Солодовников Б. В., Брюханов А. Ф., 2007).

Целью работы было изучение генетического разнообразия возбудителя туляремии, циркулировавшего в природном очаге туляремии на территории Ставропольского края в период с 2003 по 2013 г., для определения взаимосвязи отдельных генотипов с местом выделения.

В работе использовали 15 штаммов *F. tularensis holarctica*, *biovar II*, изолированных от иксодовых клещей (*Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Rhipicephalus rossicus* и *Hyalomma marginatum*), собранных на территории Красногвардейского, Изобильненского, Грачевского, Андроповского и Туркменского районов, и 1 штамм из воды колодца Петровского района Ставропольского края.

В 2011 г. из суспензий *D. marginatus* (Предгорный район) и *D. reticulatus* (Изобильненский район) не удалось выделить культуру туляремийного микроба, но в них было достаточно ДНК для генотипирования.

Генотипирование проводили по методу, описанному J. Farlow, et al. (2001).

Учитывая особенности штаммов туляремийного микроба, циркулирующих на территории Ставропольского края и прилегающих территорий, изучали вариабельность по четырем локусам: V-1 (VNTR21); V-2 (VNTR16); V-3 (VNTR6); V-4 (VNTR9) [Солодовников Б. В., Брюханов А. Ф., 2007]. Вариабельность выявлена по двум локусам: V-1 (282, 303, 324 п.н.) и V-4 (389, 398, 434, 470 п.н.). По двум другим локусам, а именно V-2 (230 п.н.) и V-3 (165 п.н.), вариабельность не выявлена.

В результате генотипирования штаммов определено 5 VNTR генотипов (G1–G5), соответственно G1 (303–230–165–470 п.н.), G2 (324–230–165–434 п.н.), G3 (282–230–165–470 п.н.), G4 (282–230–165–389 п.н.) и G5 (282–230–165–398 п.н.).

Полученные электрофоретические данные сопоставляли с известными размерами фрагментов амплификации для каждого локуса референтных образцов и вводили в программу для филогенетического анализа.

Построение филогенетического дерева осуществляли на основании определенных размеров ампликонов с помощью пакета программ R-Studio (R-Tools Technology), с использованием алгоритма группирования «Neighbor – Joining».

В результате обработки данных построена дендрограмма, графически отображающая генетические расстояния или эволюционные взаимоотношения между исследуемыми штаммами.

Анализ дендрограммы, построенной на основании данных MLVA-4 типирования, с использованием программы R-Studio, позволил выявить генетически родственный кластер (генотип G1), составленный из 12 штаммов возбудителя туляремии, выделенных в Петровском, Красногвардейском и Изобильненском районах Ставропольского края. Полевые штаммы, выделенные в Грачевском районе (генотип G2), штамм, выделенный в Андроповском районе (генотип G4), а также штамм, выделенный в Туркменском районе (генотип G5), формировали отдельные кластеры. Исследованные пулы иксодовых клещей, сформированные из особей, собранных в Изобильненском и Предгорном районах края (генотип G3), группировались в родственный кластер.

Генотип G1 определен у 1 штамма туляремийного микроба из Петровского района, изолированного в 2003 г., 7 штаммов, изолированных в 2008 г., и 1 штамма – в 2013 г., на территории Красногвардейского района. В 2008 г. в граничащем с ним Изобильненском районе выделены 3 штамма с генотипом G1, а 2011 г., в суспензии иксодовых клещей из этого района определен генотип G3. В Грачевском районе в 2010 и 2012 гг. выделено по одному штамму с генотипом G2, в Андроповском районе в 2012 г. – 1 штамм с генотипом G4, а Туркменском районе в 2013 г. – G5. В 2011 г. в суспензии иксодовых клещей из Предгорного района обнаружен генотип G3.

Полученные результаты позволяют отметить, что в последние годы наблюдается тенденция приуроченности различных генотипов возбудителя туляремии к отдельным территориям природного очага туляремии степного типа на территории Ставропольского края. Так, для расположенных рядом Красногвардейского и Изобильненского районов характерным является генотип G1. Штаммы с генотипом G1 в Красногвардейском районе выделяли с периодичностью 5 лет, а с генотипом G2 в Грачевском районе – 3 года. Выделение штаммов туляремийного микроба разных генотипов совпадает с географической разобщенностью отдельных административных территорий.

Очевидно, что природный очаг туляремии степного типа в Ставропольском крае состоит из отдельных микроочагов, в которых циркулируют штаммы *F. tularensis holarctica*, *biovar II* – преимущественно одного генотипа, наиболее характерного для микроочага. В настоящее время такие микроочаги расположены мозаично и независимо друг от друга на территориях Петровского, Красногвардейского, Изобильненского, Грачевского, Андроповского, Предгорного и Туркменского районов Ставропольского края. Периодическое выделение культур возбудителя туляремии или обнаружение антигена возбудителя туляремии в них свидетельствует о стойком укоренении возбудителя.

Для понимания механизма существования природного очага туляремии степного типа необходи-

мы постоянное проведение мониторинга и изучение генотипа возбудителя.

Таким образом, используя данные о генотипах штаммов *F. tularensis*, циркулирующих на определенных территориях, можно получить предварительную информацию о происхождении вновь выделенных штаммов, что будет весьма полезно при проведении эпизоотологического обследования территории природного очага и эпидемиологического расследования случаев заболевания туляремией.

УДК 578.833.1:595.42(470)

Вольнкина А. С., Леванцова Я. В.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ, ВЫЯВЛЕННОГО В КЛЕЩАХ НА ЮГЕ РОССИИ

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Крымская геморрагическая лихорадка – особо опасная природно-очаговая вирусная инфекция, эндемичная для регионов Юга Европейской части России.

В России природный очаг КГЛ расположен на территории Южного и Северо-Кавказского федеральных округов (ЮФО и СКФО). Случаи заболевания КГЛ в России регистрируются в течение 15 лет (с 1999 г.). За это время выявлено 1654 больных, уровень летальности составил 4,4 %.

В 2012–2013 г. проводился мониторинг инфицированности иксодовых клещей вирусом ККГЛ на Юге России. Исследование проводилось методом ПЦР с применением набора «АмплиСенс ССНФ-FL».

Исследовано 1040 пулов иксодовых клещей, относящихся к видам *Hyalomma marginatum* (444 пула), *H. scupense* (204), *Rhipicephalus rossicus* (41), *Rh. bursa* (61), *Rh. sanguineus* (5), *Rh. turanicus* (31), *Haemaphysalis punctata* (43), *Dermacentor marginatus* (69), *D. reticulatus* (65), *Ixodes ricinus* (14), *Voophilus annulatus* (63). Вирус ККГЛ выявлен в пробах клещей видов *H. marginatum* (55 образца), *H. scupense* (9), *Rh. rossicus* (4), *Voophilus annulatus* (1). Полученные данные подтверждают активную циркуляцию вируса ККГЛ, зараженность основного переносчика *H. marginatum* – 12,4 %.

Генетическое типирование осуществляли методом секвенирования фрагмента 115–652 – кодирующей области S-сегмента генома вируса ККГЛ (538

п.о.) с последующим филогенетическим анализом. Построение филогенетических деревьев проводили в программе Mega 5.05. с использованием метода Neighbor joining по алгоритму Kimura-2.

Проведено генотипирование вариантов вируса ККГЛ, выявленного в 29 пробах суспензий клещей.

Результаты исследований РНК вируса, выявленного в суспензиях клещей, показали принадлежность изолятов вируса ККГЛ к генотипу «Европа-1», подгруппам «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» и «Волгоград-Ростов-Ставрополь», также 4 пробы не кластеризовались ни с одним из описанных ранее генотипов и выделились в отдельную ветвь на филогенетическом дереве «Калмыкия».

Географическое распространение генетических вариантов вируса было проанализировано с помощью программного обеспечения ArcGIS 10.1.

Представители генетических подгрупп формируют отдельные локальные и частично перекрывающиеся очаги. Представители кластера «Волгоград-Ростов-Ставрополь» циркулируют в северных областях. Представители кластера «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» формируют обширный очаг на юге. Также существует локальный очаг в Республике Калмыкия, где циркулируют генетически отличные штаммы «Калмыкия».

Данное территориальное распределение генотипов свидетельствует об одновременном формировании и параллельной эволюции двух крупных очагов КГЛ: северного и южного, миграция генотипов между которыми возможна при переносе зараженных клещей на крупный рогатый скот и при внутрисезонных миграциях грачей и жаворонков.

УДК 616.98:579.881.13(470.6)

Котенев Е. С., Леванцова Я. В.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ *COXIELLA BURNETTI* НА ОТДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Материалом для проведения данного исследования послужили сборы клещей в Республике Карачаево-Черкесия в 2013 году, Ставропольском крае в 2013–2014 годах и в Республике Дагестан в 2014 году. Выявление *Coxiella burnetii* в исследуемых образцах осуществляли методом Real-time PCR, с использованием праймеров, описанных в статье Howe *et al.* (2009). Молекулярно-генетическое типирование положительных образ-

цов (Plasmid Types, MLVA, SNP) проводили из полевого материала без выделения штаммов.

Определение типа плазмиды осуществляли с использованием разработанных нами праймеров. Подавляющее большинство исследованных образцов (все образцы из Ставропольского края) имели плазмиду QpRS. Лишь в четырех образцах из Республики Дагестан и одном из Карачаево-Черкесской Республики обнаружена плазида QpH1. Причем в образцах с плазмидой QpH1, собранных на территории Дагестана, обнаруживалась и плазида QpRS. Исследование таких образцов в дальнейшем затрудняет проведение молекулярно-генетического типирования.

MLVA-типирование проводили двумя панелями с 17 отличающимися VNTR-локусами, описанными в статье Arricau-Bouvey *et al.* (2006). Для сравнения полученных данных с описанными ранее MLVA-генотипами использовали электронный ресурс <http://mlva.u-psud.fr>.

В результате на территории Ставропольского края и Республики Дагестан были обнаружены два новых, не описанных ранее MLVA-генотипа, отличающихся между собой по величине аллеля локусов ms 31 и ms 36. Наиболее близки к ним генотипы штаммов F4 и R1140, выделенные на территории Франции и России, которые, однако, отличаются по шести (ms 24, ms 26, ms 28, ms 30, ms 31, ms 36) и семи (ms 24, ms 26, ms 28, ms 30, ms 33, ms 31, ms 36) локусам соответственно.

SNP-генотип определяли с использованием праймеров, указанных в статье Huijsmans *et al.* (2011).

Все исследованные изоляты как на территории Ставропольского края, так и на территории Республики Дагестан имели одинаковый SNP генотип (769 A, 2287 A, 4439 A, 4557 A, 4844 C, 5423 G, 6025 G, 7078 T C, 7726 G, 7974 G), который отличается от уже известных и наиболее близок к 6 SNP генотипу, описанному в работе Huijsmans *et al.* (2011).

Таким образом, при исследовании пулов клещей, содержащих возбудитель Ку лихорадки, нами выявлено разнообразие по MLVA-генотипам в структуре популяции *Coxiella burnetii* на территории Северного Кавказа, а также показана возможность типирования возбудителя – непосредственно в полевом материале, без выделения штаммов.

УДК 579.852.11 (470.6+479.2)

**Котенева Е. А., Цыганкова О. И.,
Еременко Е. И.**

АНАЛИЗ *cap*SNP ГЕНОТИПОВ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА И ЗАКАВКАЗЬЯ

*ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт,
Ставрополь*

Сибирская язва остается актуальной инфекцией для многих стран мира, несмотря на постоянное совершенствование средств профилактики и диагностики этой инфекции. Как правило, вспышки заболеваемости людей связаны с эпизоотиями и носят спорадический характер, однако всегда сопряжены с проведением большого объема диагностических, терапевтических, противоэпидемических и профилактических мероприятий. К факторам, способным осложнить обстановку по данной инфекции, относится наличие большого количества стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (в том числе и неучтенных), а также возможность использования возбудителя сибирской язвы в качестве средства биологического терроризма. Кроме того, возросшая в последние десятилетия мобильность населения и постоянно расширяющиеся торгово-экономические связи создают повышенный риск случайного или намеренного завоза возбудителя с импортируемой или контрабандной продукцией. Примером такой ситуации может быть «героиновая» вспышка сибирской язвы в Европе в 2009–2010 гг., в результате которой заболели 34 человека.

Одним из наиболее важных вопросов, который необходимо решать всякий раз при возникновении вспышек сибирской язвы, как естественного характера, так и связанных с возможными актами биотерроризма, является вопрос о происхождении и путях распространения возбудителя. В последние десятилетия общепризнанным стандартом для его решения стал метод генетического типирования штаммов возбудителя. Для идентификации генетических маркеров, определяющих степень родства между штаммами *B. anthracis*, используют два молекулярных метода с разной дискриминирующей способностью: многолокусный анализ переменных тандемных повторов (MLVA) и анализ единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNP). Использование канонических (ключевых) SNP позволяет определять основные клоновые линии сибирезавенного микроба, каждая из которых приурочена к определенному географическому региону.

Целью нашего исследования было определение и анализ 13 канонических SNP у штаммов

B. anthracis, выделенных на территории Северного Кавказа и Закавказья, для установления филогенетического родства данных штаммов (локальной популяции) в структуре мировой популяции сибиреязвенного микроба.

Материалом для исследования стала репрезентативная выборка из 48 штаммов *B. anthracis*, из коллекции Ставропольского противочумного института за период с 1959 по 2013 г. Географически данные штаммы охватывали территорию Северного Кавказа (Ставропольский край, Республика Чечня, Ингушетия, Дагестан, Кабардино-Балкария, Калмыкия, Северная Осетия) и Закавказья (Азербайджан, Грузия). Большая часть исследованных штаммов была изолирована от больных людей – 24 и животных – 7, из почвы и объектов окружающей среды было выделено 14 штаммов, и 3 штамма были выделены из не характерного для сибирской язвы материала – блох и клещей.

Определение *canSNP* профиля проводили с использованием собственных LNA-зондов и праймеров, описанных Van Eart et al. (2007). Пробоподготовка образцов ДНК для постановки ПЦР проводилась в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Для выделения ДНК и амплификации специфических фрагментов использовали реактивы производства ООО «ИнтерЛаб-Сервис» (г. Москва). В работе использовались многоканальные амплификаторы с детекцией результатов в режиме «real-time» CFX 96 (Bio-Rad) и RotorGene 6000 (QIAGEN). Детекцию *canSNP* проводили с использованием меток FAM и R6G в мультиплексном формате. Для подтверждения результатов было проведено выборочное секвенирование отдельных *canSNP* локусов методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABI Prism 3130 GeneticAnalyzer (AppliedBiosystems, США).

В ходе выполнения данной работы нами было идентифицировано 3 *canSNP* генотипа, указывающих на значительное генетическое разнообразие в популяции сибиреязвенного микроба, циркулирующей на территории Кавказа и Закавказья. Вариантабельными оказались 5 канонических полиморфизмов, принадлежащих к обоим основным линиям молекулярного разнообразия – А и В.

Генотип, названный нами *canSNP* 1, практически идентичен *canSNP* профилю линии V.Br Kruger, однако благодаря отличию по одному из локусов V.Br, формирует отдельную клональную линию в рамках субгруппы V.Br Kruger/ V.Br 001/002. Следует отметить, что генотип *canSNP* 1 достаточно редкий и идентифицирован только у 3 штаммов, выделенных в разные годы на территории республики Дагестан. Эти штаммы имеют идентичный MLVA8 генотип, а также сходный комплекс фенотипических и биохимических признаков.

Генотип *canSNP* 2 – наиболее многочисленный и близок к ветви генетического разнообразия A.Br 008/009, которая является доминирующей в Европе. *CanSNP* 2 генотип обнаружен у 30 из исследованных нами штаммов *B. anthracis* и встречается повсеместно как на территории Северного Кавказа, так и Закавказья. Все эти штаммы имеют разные MLVA8 генотипы, относящиеся в основном к генетической ветви A3a и частично – A1, описанные Keim et al (2000). По фенотипическим признакам данную группу составляют типичные вирулентные штаммы сибиреязвенного микроба.

Генотип *canSNP* 3 занимает отдельное положение в рамках ветви А благодаря уникальной комбинации исследованных *canSNP*, хотя филогенетически наиболее тесно связан с ветвью А. Br. Aust 94. В эту сравнительно немногочисленную группу вошли 15 штаммов со всей территории Северного Кавказа и Закавказья. Наши данные о распространении этого генотипа согласуются с данными о преимущественном доминировании ветви А. Br. Aust 94 в Западной и Центральной Азии.

Таким образом, полученные нами данные указывают на значительное генетическое разнообразие штаммов *B. anthracis*, циркулирующих на территории Северного Кавказа и Закавказья, так как исторически по территории этих регионов проходили торговые пути и миграционные потоки между Европой и Азией, способствующие проникновению штаммов *B. anthracis* с «эндемичными» генотипами на новые территории и появлению новых групп генетического разнообразия.

УДК 616.98:578.833.31(470.47+470.6)

**Кузнецова И. В., Волынкина А. С.,
Дикова С. П., Ефременко Д. В.**

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ
СВЕЖЕВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ
YERSINIA PESTIS
ИЗ ПРИКАСПИЙСКОГО ПЕСЧАНОГО
ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Территория Прикаспийского песчаного очага чумы занимает восточную часть Северо-Западного Прикаспия, с низовьев Волги на северо-востоке до низовьев Терека на юге. Восточной границей очага является береговая линия Каспийского моря. Очаговая территория в границах Волго-Терского междуречья составляет 71 950 км² и занимает западную часть Прикаспийской низменности. В очаге эпизоотии регистрировались с 1913 по 1954 г., с незначительными интервалами. После 1979 г.

почти на всей территории наступил период активности очага.

Изолированные из очага штаммы чумного микроба высоковирулентны и относятся к основному подвиду *Yersinia pestis subsp. pestis*.

Ранее нами были генотипированы 58 штаммов, выделенных из восьми природных очагов чумы. Для типирования применялись методы: анализ отличающихся участков ДНК (DFR) и VNTR-типирование по 25 локусам (MLVA 25).

Цель работы – определение и сравнительная характеристика DFR- и MLVA 25 – профилей восьми штаммов, выделенных в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы в 2014 г.

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора «ДНК-Сорб В» (ФБУЗ ЦНИИ эпидемиологии, Россия). Реакцию амплификации проводили с олигонуклеотидными праймерами, синтезированными в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, на амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Размер аллелей определяли с помощью автоматической станции электрофореза ExperionSystem (BioRad, США).

В соответствии с описанной ранее методикой (Lietal., 2008) проведен анализ штаммов на наличие или отсутствие 23-х DFR-локусов.

Результаты исследования показали, что штаммы из Прикаспийского песчаного природного очага чумы обладают одинаковым DFR-генотипом 15. Однако из пяти изученных ранее штаммов, выделенных в этом природном очаге, только один относился к DFR-генотипу 15, остальные штаммы имели отличие по одному DFR-локусу 19 и были отнесены к DFR-генотипу 46. При этом штамм с DFR-генотипом 15 был изолирован из очага в 1988 г., а остальные четыре штамма – с 2001 по 2003 г.

MLVA проводили по схеме (LeFlecheetal., 2001), учитывая размер 25 VNTR-локусов *Y. pestis*.

Все исследованные штаммы относятся к одному MLVA-типу. Изученные ранее штаммы из Прикаспийского песчаного очага чумы имели MLVA-тип, отличающийся по 4 локусам (ms09, ms41, ms56, ms74).

На основании метода UPGMA с помощью компьютерной программы START 2 была построена дендрограмма, отображающая степень филогенетического родства изолятов.

Результаты DFR- и MLVA-25-типирования показали, что исследуемые штаммы из Прикаспийского песчаного природного очага чумы филогенетически наиболее близки к штаммам, циркулирующим в Дагестанском равнинно-предгорном природном очаге чумы.

УДК 616.9 (578.4)

**Останкова Ю. В., Семенов А. В.,
Мукомолов С. Л., Герасимова В. В.**

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В (ВГВ) В РЕСПУБЛИКЕ ЯКУТИЯ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»,
Санкт-Петербург*

Одним из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, вызывающих хроническое поражение печени, является вирус гепатита В (ВГВ). Постоянное возрастание распространенности вируса гепатита В в России продолжается, несмотря на активную вакцинацию населения против ВГВ и другие мероприятия, проводимые для борьбы с заболеванием.

Генотип вируса гепатита В и появляющиеся новые мутации, способствующие изменениям фенотипа вируса, определяют антигенную специфичность белковых структур ВГВ и оказывают значимое влияние на течение хронического вирусного гепатита В. При этом разнообразие клинических проявлений хронического вирусного гепатита зависит преимущественно от специфики взаимодействия вируса с иммунной системой человека, а также непосредственно от его биологических особенностей.

Анализ распределения генотипов ВГВ в различных регионах мира выявляет существенные отличия, в то же время крайне невелико количество данных по молекулярной эпидемиологии ВГВ в Российской Федерации по сравнению с другими странами. Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции определенных генотипов имеют существенное значение для отдаленных регионов страны.

В работе были использованы образцы плазмы крови 35 больных с верифицированным хроническим вирусным гепатитом В, полученные от коренных жителей различных поселков и городов Якутии.

Методом полимеразной цепной реакции с дальнейшей секвенирующей реакцией были получены и с помощью системы GenomeLab GeXP проанализированы фрагменты ДНК длиной 1472 п.о., включающие участок гена полимеразы (Р), а также весь ген S, в том числе участок, кодирующий непосредственно S-белок, участок, кодирующий средний S-белок (ген S, pre-S2), и участок, кодирующий большой S-белок (ген S, pre-S1, pre-S2).

Первичный сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast. Выравнивание последова-

тельностей и филогенетический анализ осуществляли с помощью программы MEGA 5.

Все исследуемые образцы принадлежали к генотипу D, являющемуся наиболее распространенным на территории Российской Федерации.

Различный объем выборок не позволил выявить статистически достоверные отличия в распределении подгрупп в зависимости от населенного пункта. Однако с помощью филогенетического анализа мы обнаружили разделение на две группы. Большая из этих групп оказалась подразделена на подгруппы, но все последовательности, представленные в них, были схожи с изолятами, показанными для Северной и Юго-Восточной Сибири, а также с изолятами Балтийского региона и принадлежали к субгенотипу D2. Другая группа состояла из 5 образцов, представляющих субгенотип D3, относительно редко встречающийся на территории РФ, но характерный для некоторых районов Италии и Северной Америки, а также для бразильских туземцев. Таким образом, становится очевидным, что пути распространения и заражения ВГВ были различны и имели, как минимум, два различных географических источника.

УДК 578.891А:577.21(470+571)

**Пименов Н. Н., Карандашова И. В.,
Неверов А. Д., Долгин В. А., Лебедева Е. Б.,
Комарова С. В., Чуланов В. П.**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА А В РОССИИ

*ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора,
Москва*

Гепатит А по-прежнему остается одной из актуальных проблем здравоохранения многих стран мира. По оценкам ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется около 1,4 млн случаев заболевания. В России эпидемиологическую ситуацию по гепатиту А можно назвать «периодом мнимого благополучия». С одной стороны, в период с 1991 года по 2013 год показатель заболеваемости снизился в 27 раз – со 165 до 6 случаев на 100 тыс. населения, однако, с другой стороны, снижение естественной циркуляции вируса гепатита А (ВГА) среди населения приводит к сокращению популяционного иммунитета, что на фоне существующих проблем в области санитарно-коммунального состояния многих территорий страны и активной миграции населения из эндемичных по гепатиту А стран Средней Азии может стать причиной возникновения крупных вспышек инфекции.

Развитие молекулярно-биологических методов исследования и их использование для диагностики инфекционных болезней человека позволило

существенно расширить представления о многих этиологических агентах, в том числе о ВГА. Проведенные исследования показали, что наиболее вариабельной областью генома, секвенирование которой может использоваться для изучения генетического разнообразия ВГА, является область VP1/2A. На основании результатов филогенетического анализа области VP1/2A штаммов вируса, циркулирующих в разных регионах мира, создана современная классификация, включающая шесть генотипов. У человека встречаются три генотипа ВГА (I–III), каждый из которых разделяется на субтипы А и В. Субтип IA является наиболее распространенным в мире, менее распространены субтипы IB, IIIA и IIIB. Генотип II обнаружен у нескольких заболевших из Франции и стран Западной Африки.

Использование молекулярно-генетических методов позволяет идентифицировать возбудителя инфекции более эффективно по сравнению с классическими эпидемиологическими методами, устанавливать связь между случаями инфицирования, определять факторы передачи вируса, проводить мониторинг географического распространения генетических вариантов возбудителя.

Целью исследования стало определение молекулярно-генетических характеристик штаммов вируса гепатита А, циркулировавших на территории РФ в 2005-2013 годах.

Исследовано 3508 образцов сыворотки крови и 42 образца фекалий от больных гепатитом А и лиц с подозрением на гепатит А из очагов инфекции, а также 346 концентратов проб воды и 106 смывов с образцов пищевых продуктов. РНК ВГА обнаружена в 1573 образцах. Выделение РНК ВГА проводили из 100 мкл сыворотки крови и 1000 мкл концентратов проб воды с помощью набора реагентов «АмплиСенс HAV-FL» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Проведено генотипирование 559 изолятов ВГА, выделенных от пациентов, проживающих в более чем 200 населенных пунктах, расположенных в 35 субъектах РФ, входящих в состав восьми федеральных округов. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции с субтип-специфическими праймерами к генотипам ВГА IA, IB, IIIA, IIIB.

Для проведения филогенетического анализа штаммов ВГА и изучения особенностей их географической кластеризации проведено секвенирование VP1/2B (410 пар нуклеотидов) и 2С (648 пар нуклеотидов) областей генома на автоматическом секвенаторе «ABI Prism 3100» производства Applied Biosystems. Общее число секвенированных изолятов ВГА составило 428. Филогенетический анализ проводили с помощью метода Neighbor-joining (Geneious 6.0). Статистическая значимость филогении оценивалась методом bootstrap (1000 повторов). К одному штамму относили два и более изолятов, идентичных по двум исследуемым областям генома. Штаммы, отличающиеся друг от

друга не более чем на две нуклеотидные замены в пределах двух областей, относили к генетически близкородственным.

Для изучения молекулярно-генетических особенностей вспышек гепатита А были проанализированы штаммы ВГА из 28 очагов инфекции, зарегистрированных на территории 20 субъектов РФ.

По результатам субтипирования было установлено, что 70 % исследованных изолятов ВГА относились к субтипу IA, 29 % изолятов были представлены субтипом IIIA, единичные изоляты – субтипом IB. Доля субтипа ВГА IA в федеральных округах составляла от 50 % (Южный федеральный округ) до 100 % (Северо-Кавказский федеральный округ). В отдельных субъектах РФ, таких как Сахалинская, Новгородская, Тюменская области, Республики Тыва, Бурятия, Дагестан, Чеченская республика, доля данного субтипа достигала 100 %.

В ряде регионов значительную долю среди выявленных изолятов ВГА составлял субтип IIIA. Так, более четверти всех случаев гепатита А было вызвано данным субтипом вируса в Центральном (42 %) и Приволжском (42 %) округах. Наибольшая доля субтипа IIIA выявлялась в Республике Саха (62 %), г. Москве и Московской обл. (32 %), Омской обл. (28 %), Волгоградской обл. (21 %), Воронежской обл. (17 %). Случаи, вызванные субтипом IB, были выявлены в Центральном ФО (г. Москва, 4 случая), Приволжском ФО (Республика Марий Эл, 2 случая) и в Южном ФО (Ростовская обл., 1 случай). В пяти из семи вышеописанных случаев больные указывали на факт выезда за пределы РФ (Египет, Турция) в период, предшествовавший заболеванию.

В результате филогенетического анализа полученных штаммов субтипа IA было выделено несколько территориальных кластеров: кластер европейской части РФ, кластер южных регионов России, тувинский кластер и кластер штаммов средиземноморского региона, выявленных в Хабаровске и Сахалинской области. Штаммы, попавшие в кластер европейской части РФ, являются наиболее распространенными на территории РФ и обуславливают большинство вспышек ГА. Штаммы тувинского кластера IA субтипа были обнаружены только в данном регионе, что, вероятно, связано с его значительной географической изоляцией. Штаммы, формирующие дальневосточный кластер, являются филогенетически близкими к средиземноморским штаммам, выявляющимся в Тунисе, Италии и Испании.

Филогенетический анализ штаммов III генотипа ВГА, включающих штаммы из России и стран СНГ, а также последовательности из других стран, полученные из GenBank, выявил наличие трех кластеров для штаммов субтипа IIIA, основной из которых содержал абсолютное большинство российских штаммов и штаммов стран СНГ. Единый кластер образовывали большинство штаммов из стран Средней Азии. Штаммы субтипа IIIA, выявленные на территории Республики Саха (Якутия),

образовывали целую группу кластеров, филогенетически отличных от среднеазиатских. Отдельными кластерами, достоверно отличающимися от других, были представлены штаммы, выявленные в Кемеровской области.

Определение субтипов изолятов ВГА, выявлявшихся во время вспышек, показало, что 20 из 28 вспышек (71 %) были вызваны субтипом IA вируса, тогда как остальные 8 – субтипом IIIA. При филогенетическом анализе была выявлена значительная генетическая гетерогенность как среди изолятов IA, так и IIIA субтипов. В большинстве вспышек, вызванных ВГА IA субтипа, были выявлены эндемичные для данных территорий штаммы. Например, в Тверской области (2005 г.) и в г. Москва (2010 г.) выявлялись штаммы, характерные для европейской части РФ, в 2 вспышках в Республике Тыва (2008, 2010 гг.) обнаружены штаммы из тувинского кластера, в 2 вспышках в Сахалинской области (2006–2007 гг.) – штаммы из дальневосточного кластера, в Республике Дагестан (2008 г.) – штаммы из южного кластера. В одной из вспышек наблюдалась циркуляция как штаммов кластера европейской части РФ, так и штаммов среднеазиатского кластера (г. Екатеринбург, 2006 г.).

В 5 из 8 вспышек, вызванных субтипом IIIA ВГА, выявлялись штаммы из среднеазиатского кластера, не характерные для регионов возникновения данных вспышек, а в 3 остальных случаях вспышки были вызваны штаммами, ранее встречавшимися на этих территориях. Анализ штаммов ВГА, циркулировавших в пределах каждой из изученных вспышек, позволил в ряде случаев установить не только её характер (завоз или распространение штамма локально), но и выдвинуть гипотезы о механизме её развития, доказать единство фактора передачи возбудителя, доказать или опровергнуть взаимосвязь как отдельных случаев заболевания, так и отдельных вспышек.

Полученная на основе филогенетического анализа характеристика российских штаммов ВГА может быть использована не только для установления факта заноса возбудителя гепатита А из других стран, но и выявления заносных случаев заболевания между разными регионами страны. Анализ молекулярно-генетических характеристик штаммов ВГА, циркулирующих во время вспышки, дает дополнительную информацию для установления источника возбудителя инфекции, путей и факторов передачи, а также временных и пространственных границ очага.

УДК 577.2:579.25:579.841.93(470.67)«451.2»

Писаренко С. В., Ковалев Д. А.,
Нечаева Ю. Н., Лямкин Г. И.

**АНАЛИЗ ГЕНОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК
В ДНК ШТАММОВ *BRUCELLA
MELITENSIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ
НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ
ДАГЕСТАН В 2012-2013 ГГ.**

ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Введение. Одним из актуальных направлений исследований в области изучения бруцелл представляется поиск конкретных генетических маркеров, ассоциированных с такими биологическими свойствами бруцелл, как вирулентность, способность к длительной персистенции в организме больных, резистентность к антибактериальным препаратам и др.

В настоящее время в связи с широким внедрением в практику новых молекулярно-генетических методов и развитием технологий высокопроизводительного секвенирования стало возможным проведение анализа полных геномов *Brucella spp.* Информация о первичной структуре геномной ДНК, депонированная в общедоступные международные базы данных, может быть использована для точной идентификации и типирования штаммов возбудителя бруцеллеза.

Одной из перспективных задач является создание представительной электронной базы данных полногеномных последовательностей штаммов возбудителя бруцеллеза, циркулирующих в Российской Федерации, и проведение детального биоинформатического анализа полученных данных с целью изучения генетической вариабельности бруцеллезного микроба.

В 2012–2013 гг. в Республике Дагестан от людей было выделено 15 штаммов возбудителя бруцеллеза. В результате проведенной идентификации штаммов в Референс-центре по мониторингу за возбудителем бруцеллеза установлено, что штаммы относятся к *Brucella melitensis* III биовар (14 штамм) и *B. melitensis* I биовар (1 штамм) (Лямкин Г. И. с соавт., 2014).

Цель работы заключалась в полногеномном секвенировании и сравнительном анализе основных геномных перестроек в ДНК трех штаммов *B. melitensis*, выделенных в 2012–2013 гг. от людей на территории Республики Дагестан.

Материалы и методы. Для исследования использовали штаммы *B. melitensis* C-554, *B. melitensis* C-555 и *B. melitensis* C-558, которые относятся к III биовару *B. melitensis*, и соответственно были выделены из крови больных в Тарумовском, Шамильском и Левашинском районах Республики Дагестан.

Выделение ДНК штаммов проводили с использованием набора для выделения геномной ДНК бактерий ChargeSwitch gDNA Mini Bacteria Kit («Invitrogen», США), используя стандартный протокол в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Секвенирование геномов штаммов осуществляли на генетическом анализаторе модели Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM™) с использованием соответствующих фрагментных библиотек (shot-gun).

Сборку контигов (фрагментов геномной последовательности) и определение их взаимного расположения проводили с помощью пакета программ Newbler Assembler 2.9 (454 Life Science) (www.454.com/contact-us/software-request.asp). Геном *B. melitensis* C-554 представлен 73 контигами общим размером 3278724 п.о. (G+C 57,2%), *B. melitensis* C-555 – 56 контигами общим размером 3280518 п.о. (G+C 57,2%), *B. melitensis* C-558 – 68 контигами общим размером 3278991 п.о. (G+C 57,2%). В качестве референтного штамма использовали *B. melitensis* bv. 1 str. 16M (NC_003317, NC_003318).

Результаты исследования. В результате анализа полученных последовательностей были выявлены следующие геномные перестройки, общие для ДНК трех исследуемых штаммов: области инсерции 3537 п.о., локализованная на I хромосоме (координаты в референтной последовательности 1401688...1401689, ВМЕI1347...ВМЕI1348), и 6812 п.о., локализованная на II хромосоме (координаты в референтной последовательности 679149...679150, ВМЕII0646); область инверсии 423 п.о., локализованная на II хромосоме (координаты в референтной последовательности 753558...753980, ВМЕII0713...ВМЕII0714).

В электронной базе данных GenBank с помощью алгоритма BLASTn (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) был проведен поиск сходных с описанными инсерциями нуклеотидных последовательностей. При этом в случае инсерции 3537 п.о. было установлено максимальное сходство с участками ДНК штаммов *B. melitensis* M5-90 (CP001851.1), *B. melitensis* M28 (CP002459.1) и *B. melitensis* ATCC 23457 (CP001488.1), в случае инсерции 6812 п.о. – с последовательностью штамма *B. melitensis* ATCC 23457 (CP001489.1).

Функциональный анализ инсерции 3537 п.о., расположенной на I хромосоме, показал, что в указанной нуклеотидной последовательности локализовано 7 генов (гипотетически кодирующие белки VM590_A0604, VM590_A0605, VM590_A0610; белки семейства НК97 VM590_A0606, VM590_A0607; белок семейства gp8 VM590_A0608 и фаговый адапторный белок VM590_A0609). Инсерция 6812 п.о. в локусе ВМЕII0646 (ген, кодирующий ацетил-СоА-трансферазу) включает 6 генов

(гипотетически кодирующие белки BMEА_0606, BMEА_0607; FAD-зависимая оксидоредуктаза BMEА_0604, периплазматический аминокислотно-связывающий белок BMEА_0605, амидогидролаза 3 BMEА_0608, β-кетoadипил CoA тиолаза BMEА_0609).

В состав выявленной инверсии входят нуклеотидные последовательности двух генов BMEП0713 и BMEП0714, кодирующих транспозазы.

Геномные последовательности исследованных штаммов были депонированы в международную базу данных DDBJ/EMBL/GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) под номерами *B. melitensis* C-554 – JFAS00000000, *B. melitensis* C-555 – JFAT00000000, *B. melitensis* C-558 – JJOF00000000. Геномные последовательности, описанные в настоящей публикации, имеют номера доступа JFAS01000000, JFAT01000000 и JJOF01000000 соответственно.

Полученные данные могут служить одним из критериев для генотипирования бруцелл, т. к. изменения в нуклеотидной структуре, в отдельных областях генома часто сопровождаются появлением значимых метаболических различий у соответствующих близкородственных штаммов бруцеллезного микроба.

УДК: 579.843.1:579.253.083.1

**Хунхеева Ж. Ю., Миронова Л. В.,
Афанасьев М. В., Балахонов С. В.**

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИЛОКУСНОГО VNTR-АНАЛИЗА ПРИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ ТИПИРОВАНИИ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*ФКУЗ Иркутский противочумный институт
Роспотребнадзора,
Иркутск*

В рамках эпидемиологического надзора за холерой значительная роль отводится микробиологическому анализу обнаруживаемого в объектах окружающей среды *V. Cholerae*, с применением современных методов молекулярно-генетического типирования по различным маркерам-мишеням, направленных как на оперативное определение эпидемической значимости изолированных культур, так и на изучение путей распространения возбудителя, его клональной структуры и генетического разнообразия (VNTR – variable number tandem repeat; «housekeeping genes»; SNP – single nucleotide polymorphism и т. д.).

Один из широко используемых для внутри-видового типирования различных микроорганиз-

мов методов – мультилокусное VNTR-типирование (MLVA, multilocus variable number tandem repeat analysis). Принцип метода заключается в анализе структуры и кратности повторяющихся единиц в геноме микроорганизма с последующей биоинформационной обработкой полученных результатов. Метод характеризуется высокой дискриминирующей способностью, удобством сравнения данных в виде числового паттерна, простотой и быстротой выполнения процедуры анализа.

На основании изложенного цель настоящего исследования – анализ клональной структуры изолированных в 2013 г. на территории Сибири и Дальнего Востока *V. cholerae* O1 серогруппы с помощью VNTR-типирования.

Материал и методы. Проведено исследование 10 штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды на территории Сибири и Дальнего Востока, в 2013 г., в т. ч. 6 – из Забайкальского края, 2 – из Хабаровского края, по одному штамму – из Республики Бурятия и Иркутской области. Для анализа закономерностей циркуляции *V. cholerae* O1 с определенными VNTR-профилями проводилось их сравнение с профилями штаммов, выделенных на территории ранее (2009–2012 гг.). VNTR-профилирование осуществлялось по пяти локусам tandemных повторов VcA, VcB, VcC, VcD и VcG. Определение размера амплифицированного продукта осуществлялось капиллярным электрофорезом на ДНК-анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония). Биоинформационный анализ результатов типирования выполнялся с применением программного комплекса Bionumerics v 6.01 («Applied Maths», Бельгия).

Результаты исследования и обсуждения. При MLVA-типировании изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке в 2013 г. *V. cholerae* O1 в геноме восьми изолятов (из Забайкальского края, Республики Бурятия и Иркутской области) установлено наличие четырех локусов VcA, VcC, VcD, VcG и отсутствие локуса VcB, что характерно для нетоксигенных вибрионов Эльтор. Выделенные из проб воды р. Черная Хабаровского края два штамма холерного вибриона характеризуются присутствием всех анализируемых локусов, в том числе локуса VcB, ассоциированного с геном токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA*. При тестировании этих штаммов в ПЦР установлено присутствие в их геноме гена *tcpA*, что позволяет расценивать их как потенциально эпидемически опасные варианты возбудителя холеры.

По результатам распределения VNTR-профилей исследуемых штаммов при кластерном анализе с построением дендрограммы по алгоритму UPGMA показано наличие двух клональных комплексов. Первый комплекс, образованный штаммами с типичным для эпидемически неопасных *V. cholerae* набором локусов: VcA, VcC, VcD, VcG, – дифференцируется на пять уникальных и

один кластерный генотип. Идентичной структурой локусов тандемных повторов обладают три штамма *V. cholerae* O1, выделенные из проб оз. Кенон в различных стационарных точках. Три другие штамма *V. cholerae* O1, выделенные в Забайкальском крае, имеют уникальные VNTR-профили с меньшим количеством повторов в локусе VcA.

Холерные вибрионы из рек Ангара и Селенга также характеризуются уникальными VNTR-профилями: VcA6 VcB0 VcC9 VcD4 VcG3 (р. Ангара), VcA9 VcB0 VcC12 VcD5 VcG3 (р. Селенга), – отличающимися от профилей других штаммов, изолированных в 2013 г. Следует отметить, что в предыдущие годы штаммов *V. cholerae* с указанными VNTR-профилями в данных водных объектах не было обнаружено, что указывает на возможный занос вибрионов в благоприятную экологическую нишу.

Второй дистанцированный комплекс образован двумя изолятами из Хабаровского края, содержащими ген *tcpA*. Их аллельный профиль определен как VcA18, VcB30, VcC12, VcD9, VcG6. По локусу VcB для данных штаммов характерно наличие большего количества повторов (30) в отличие от группы охарактеризованных ранее токсигенных вариантов (21–28). Сходным VNTR-генотипом обладает штамм *V. cholerae* O1 (ctxA⁺ tcpA⁺), изолированный в 2011 г. из р. Барнаулка Алтайского края; его аллельный профиль определен как: VcA18, VcB28, VcC12, VcD12, VcG5. Филогенетический анализ результатов VNTR-типирования, с использованием алгоритма MST для нумерических данных, также демонстрирует выделение изолированных в г. Хабаровске и Алтайском крае штаммов *V. cholerae* в отдельную дистанцированную линию, входящую в состав клонального комплекса, образованного нетоксигенными штаммами. Уникальность аллельных профилей потенциально эпидемически опасных штаммов Хабаровского края и однократность их выделения также свидетельствуют о возможном заносе на территорию данного варианта вибриона Эльтор.

Выводы. По результатам VNTR-типирования штаммы *V. cholerae* O1, изолированные из объектов окружающей среды на территории Сибири и Дальнего Востока в 2013 г., характеризуются генетической гетерогенностью, заключающейся в наличии уникальных и кластерных VNTR-профилей. Установлено наличие локуса VcB с большим количеством (в сравнении с токсигенными штаммами) повторяющихся единиц в геноме двух изолятов *V. cholerae* из Хабаровского края, что не типично для изолируемых из объектов окружающей среды штаммов холерного вибриона.

Использование VNTR-типирования при исследовании *V. cholerae* O1 из объектов окружающей среды показало эффективность и оперативность получения информации о генотипе штамма, что несомненно важно в рамках эпидемиологического надзора.

УДК 579.941.93:599.323.4(470.6)

Шакирова Л. И., Ковалев Д. А.,
Жарникова Т. В., Худолеев А. А.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ *BRUCELLA SUIIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА МЕТОДОМ MLVA-14

ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Введение. Бруцеллы - грамотрицательные, факультативные внутриклеточные патогены, вызывающие заболевание у большого числа животных и человека. Исключительная пластичность микроорганизмов рода *Brucella* позволяет существовать им как во внешней среде, так и в организме несвойственных хозяев (морские млекопитающие, мышевидные грызуны и т. д.).

Большинство мелких мышевидных грызунов относятся к синантропным видам, живущим в тесном контакте с человеком. Вместе с тем знания об эпизоотологии бруцеллеза диких грызунов и его влияние на здоровье человека по-прежнему ограничены.

В свою очередь, на территории северных предгорий Большого Кавказа в Терско-Сунженском междуречье впервые в 1959 г. от мелких мышевидных грызунов были выделены культуры, в последующем отнесенные к 5 биовару вида *B. suis*. В период с 1982 по 1990 год проводились ежегодные эпизоотологические обследования указанной территории. Однако с 1991 года в связи с обострением межэтнических отношений в регионе Северного Кавказа обследование территории природного очага было прекращено.

Цель работы заключалась в проведении ретроспективного анализа 65 штаммов 5 биовара *B. suis* из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора с помощью метода MLVA (multiple locus variable number tandem repeats analysis), основанного на анализе комплекса ДНК-локусов возбудителя, содержащих вариабельные тандемные повторы.

Материалы и методы. В работе использовали 65 штаммов вида *B. suis*, выделенных от мышевидных грызунов на территории северных предгорий Большого Кавказа, в Терско-Сунженском междуречье в период с 1959 по 1982 г., находящихся в коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.

Выбранная схема включала анализ 14 VNTR-локусов ДНК возбудителя бруцеллеза, содержащих тандемные повторы от 8 до 134 п. н. Для оценки воспроизводимости результатов в работе использовали данные MLVA-профилей референт-

ных штаммов бруцелл с известными генотипами: *B. suis* 1330 (биовар 1), *B. suis* Thomsen (биовар 2), *B. suis* 686 (биовар 3), *B. suis* 40 (биовар 4) и *B. suis* 513 (биовар 5).

Выделение ДНК проводили с использованием коммерческих наборов «Ампли-прайм ДНК-сорб-А» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкциям производителя. Амплификацию VNTR-локусов методом ПЦР проводили с использованием методики, рекомендованной Le Fleche P.

Размеры ампликонов были измерены с помощью станции автоматического гель-электрофореза Experion Automated Electrophoresis Station (BioRad, США) и переведены в числовой формат тандемных повторов для каждого локуса. На основании полученных данных была построена матрица расстояний в евклидовом пространстве, которая легла в основу кластерного анализа с использованием алгоритма группирования «Neighbor-Joining». Вычисления проводили при помощи языка статистической обработки R. Построение филогенетического дерева осуществляли с использованием программы MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0.

Результаты исследования. Результатом обработки данных является дендрограмма, графически отображающая генетические расстояния или эволюционные взаимоотношения между исследуемыми изолятами.

Анализ дендрограммы показал, что все штаммы образуют единый кластер с референтным штаммом *B. suis* 513. Идентичными по MLVA-генотипу оказались изоляты, выделенные в одинаковые промежутки времени, что может говорить о проходящих в эти годы эпизоотиях и микроэволюции бруцеллезного микроба внутри очага. Корреляции генотипов бруцелл с источником и регионом выделения не наблюдалось, так как большинство изолятов были получены от мелких мышевидных грызунов, для которых характерны миграции и тесные внутривидовые контакты.

Интересен тот факт, что идентичными по MLVA-генотипу оказались штамм *B. suis* 468, выделенный из крови больного в г. Грозный Чечено-Ингушской АССР, и штамм *B. suis* 467, выделенный ранее от домашней мыши в том же регионе, что говорит о возможном заражении человека от мышевидного грызуна и, следовательно, о высокой вирулентности штаммов 5 биовара вида *B. suis*.

Таким образом, проведенное MLVA-14 типирование позволило уточнить систематизацию штаммов *B. suis* 5 биовара из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора в соответствии с существующим таксономическим положением видов и биоваров бруцелл. Результаты исследования демонстрируют возможности применения метода MLVA-14 в качестве эффективного инструмента для решения задач молекулярной эпидемиологии бруцеллеза.

III. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

УДК 571.27

Анисенкова Е.В.¹, Преснякова Н.Б.¹,
Филатова Е.Н.¹, Сычева Т.Д.², Уткин О.В.^{1,2}

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВАТОРОВ НА АПОПТОЗ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ

¹ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И. Н. Блохиной»

Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

²ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России»
Нижний Новгород

Исследованию характера программируемой гибели клеток (ПГК) в различных популяциях лимфоцитов на данный момент уделяют пристальное внимание. Иммуносупрессия, вызванная гибелью лимфоцитов, является важным фактором патогенеза эндотоксемии и сепсиса при инфекционной патологии и воспалительных заболеваниях неинфекционной природы. Одним из вариантов ПГК является апоптоз.

В качестве активатора и индуктора апоптоза иммунокомпетентных клеток в *in vitro* модельных системах применяют такие эффекторы, как липополисахарид (ЛПС), фитогемагглютинин (ФГА) и дексаметазон (ДМ).

ЛПС – термостабильный компонент клеточной стенки грамотрицательных микроорганизмов. В качестве его рецептора идентифицирован толл-подобный рецептор-4 (TLR-4). Экспрессия TLR-4 на различном уровне характерна для многих популяций иммунокомпетентных клеток, в том числе и Т-лимфоцитов человека. Связывание ЛПС с рецептором приводит к повышению экспрессии клетками провоспалительных цитокинов и костимулирующих молекул, что индуцирует оксидативный стресс и повышает восприимчивость клеток к апоптозу.

ФГА – лектин обыкновенной фасоли *Phaseolus vulgaris*. Является неспецифическим активатором Т-лимфоцитов, стимулирует бласттрансформацию и деление клеток. Неспецифическая активация лимфоцитов также сопровождается индукцией апоптоза. Наиболее ярко проапоптотическая активность ФГА проявляется в случае дефицита факторов роста (интерлейкин-2, интерлейкин-7), при недостатке костимулирующих сигналов (через CD28) либо в случае повторного действия активационного стимула на уже активированные Т-лимфоциты.

ДМ является синтетическим глюкокортико-стероидом, метилированным производным фтор-преднизолона. При добавлении в культуру иммунокомпетентных клеток оказывает противовоспалительное, десенсибилизирующее и иммуносупрессивное действие. ДМ угнетает пролиферацию Т-лимфоцитов, препятствует взаимодействию Т- и В-клеток, снижает продукцию интерлейкина-1 и интерлейкина-2. Эффектор связывается с цитоплазматическими рецепторами, угнетает активность митохондриальных дегидрогеназ и блокирует гликолиз.

In vitro продемонстрировано повышение уровня апоптоза CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток при добавлении ЛПС, ФГА и/или ДМ в культуру мононуклеарных клеток периферической крови. Однако данные, демонстрирующие прямое апоптоз-индуцирующее действие активаторов на различные субпопуляции Т-клеток, отсутствуют.

Целью данного исследования явилось изучение апоптоз-индуцирующего действия различных активаторов на изолированные субпопуляции Т-лимфоцитов человека *in vitro*.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились образцы периферической крови здоровых волонтеров в количестве 20 мл. Фракцию мононуклеарных клеток периферической крови выделяли в градиенте плотности Гистопак (=1,077 г/см³, «Sigma», США). Выделение субпопуляций наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов (наивные Тх, CD4⁺CD45RO⁻), эффекторных CD4⁺ Т-лимфоцитов (эффекторные Тх, CD4⁺CD45RO⁺), наивных CD8⁺ Т-лимфоцитов (наивные ЦТЛ, CD8⁺CD45RO⁻) и эффекторных CD8⁺ Т-лимфоцитов (эффекторные ЦТЛ, CD8⁺CD45RO⁺) проводили методом магнитной иммуносепарации с помощью коммерческих наборов серии EasySep («Stemcell Technologies», Великобритания), согласно рекомендациям производителя. Чистоту выделения субпопуляций Т-лимфоцитов контролировали с помощью проточной цитофлуорометрии.

Выделенные субпопуляции Т-лимфоцитов культивировали отдельно в концентрации 1x10⁶ кл/мл, в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки («РАА Laboratories», Австрия) и 2 мМ L-глутамин при 37°C и 5% CO₂. Активацию субпопуляций наивных и эффекторных Тх и ЦТЛ проводили с помощью липополисахарида *E. coli* 0111:B4 («Sigma», США) в концентрации 10 мкг/мл, либо – смеси ФГА («Sigma», США) в концентрации 10 мкг/мл и ДМ («KRKA», Словения) в концентрации 1 мМ, в течение 20 часов. Клетки, не подвергавшиеся активации, культивировали в аналогичных условиях в течение 20 часов и использовали в качестве контроля.

Уровень апоптоза в субпопуляциях Т-лимфоцитов определяли на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II («Becton, Dickinson and Company», США). Для оценки уровня апоптоза применяли двойное окрашивание аннексином V – PE (AV) и 7-аминоактиномицином-D (7-AAD) с использованием коммерческого набора «PE Annexin V Apoptosis Detection Kit» («BD Biosciences», США). На основании анализа прямого и бокового светорассеяния выделяли гейт живых лимфоцитов и лимфоцитов в ранней стадии апоптоза, а также гейт лимфоцитов в поздней стадии апоптоза. В дальнейшем гейты анализировали отдельно. На основании двойной окраски по AV и 7-AAD подсчитывали процент живых лимфоцитов (AV⁻7-AAD⁻), лимфоцитов в ранней (AV⁺7-AAD⁻) и поздней (AV⁺7-AAD⁺) стадиях апоптоза. Сбор данных, оценку и статистический анализ проводили с помощью программ «BD FACS Diva 6.1.3» («BD Biosciences», США) и «Statistica 8.0» («StatSoft», США). Различия в уровнях раннего и позднего апоптоза между исследуемыми образцами рассчитывали с применением парного t-теста или непараметрического критерия Уилкоксона в зависимости от характера распределения данных.

Результаты исследования. Исследован уровень апоптоза в свежеизолированных субпопуляциях Т-лимфоцитов при культивировании без активаторов, а также при культивировании в присутствии ЛПС или ФГА и ДМ *in vitro*. Апоптоз Т-клеток, культивируемых в отсутствие активатора, расценивался нами как спонтанный вариант ПГК.

Обнаружено, что культивирование сопровождается индукцией спонтанного апоптоза во всех изолированных субпопуляциях Т-лимфоцитов, по сравнению со свежеизолированными клетками. При культивировании доля клеток, находящихся в ранней стадии апоптоза, статистически значимо не менялась, в то время как доля клеток в поздней стадии апоптоза значительно возрастала. Так, в субпопуляции эффекторных Тх процент клеток в поздней стадии апоптоза статистически значимо увеличивался в 6,9 раза (p=0,012), наивных Тх – в 19,1 раза (p=0,012), эффекторных ЦТЛ – в 7,8 раза (p=0,003), наивных ЦТЛ – в 15,6 раза (p=0,012), по сравнению со свежеизолированными Т-клетками.

Так же, как и при культивировании без активатора, при добавлении ЛПС было выявлено статистически значимое увеличение процента Т-лимфоцитов, находящихся в стадии позднего апоптоза, по сравнению со свежевыведенными клетками. Процент клеток в поздней стадии апоптоза возрастал в субпопуляции эффекторных Тх в 9,2 раза, наивных Тх – в 23,3 раза, эффекторных ЦТЛ – в 9,4 раза, наивных ЦТЛ – в 22,7 раза (p=0,012 во всех субпопуляциях). При этом процент клеток в ранней стадии апоптоза статистически значимо не менялся. Также не выявлено статистически значимых различий процента клеток в ранней и поздней стадиях апоптоза при сравнении

Т-лимфоцитов, культивируемых с ЛПС, и клеток, культивируемых в отсутствие активатора.

При добавлении ФГА и ДМ наблюдалось статистически значимое увеличение процента клеток в ранней и поздней стадиях апоптоза во всех изученных субпопуляциях Т-клеток. По сравнению со свежеизолированными Т-лимфоцитами процент клеток в ранней стадии апоптоза возрастал в субпопуляции эффекторных Тх в 4,4 раза, наивных Тх – в 12,8 раза, эффекторных ЦТЛ – в 10,8 раза, наивных ЦТЛ – в 11,3 раза (p=0,012 во всех субпопуляциях). Процент клеток в поздней стадии апоптоза возрастал в субпопуляции эффекторных Тх в 41,3 раза, наивных Тх – в 99,1 раза, эффекторных ЦТЛ – в 19,4 раза, наивных ЦТЛ – в 57,0 раза (p<0,001 для всех субпопуляций). По сравнению с клетками, культивируемыми без активатора, добавление ФГА и ДМ вызывало увеличение процента клеток в ранней стадии апоптоза: в субпопуляции эффекторных Тх – в 9,9 раза (p=0,012), наивных Тх – 14,5 раза (p=0,001), эффекторных ЦТЛ – в 11,9 раза (p=0,012), наивных ЦТЛ – в 7,5 раза (p=0,020). Также наблюдали увеличение процента клеток в поздней стадии апоптоза: в субпопуляции эффекторных Тх – в 5,9 раза (p=0,012), наивных Тх – в 5,2 раза (p=0,012), эффекторных ЦТЛ – в 2,5 раза (p=0,001), наивных ЦТЛ – в 3,6 раза (p=0,017) – при добавлении ФГА и ДМ, по сравнению с культивированием Т-лимфоцитов без активатора.

Основываясь на скорости накопления клеток в поздней стадии апоптоза, мы выявили различную восприимчивость субпопуляций Т-лимфоцитов к индукции апоптоза в культуре, по сравнению со свежеизолированными клетками. При культивировании без добавления активаторов наиболее восприимчивыми к спонтанной индукции апоптоза оказались наивные Тх, далее наивные ЦТЛ, эффекторные ЦТЛ и эффекторные Тх в порядке убывания. Добавление ЛПС или ФГА и ДМ не влияло на восприимчивость субпопуляций Т-лимфоцитов к индукции апоптоза. При этом для наивных Тх и ЦТЛ была характерна более высокая скорость наращивания клеток в поздней стадии апоптоза, по сравнению с эффекторными Т-клетками.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЛПС не является индуктором апоптоза в изолированных субпопуляциях Т-лимфоцитов. При этом ФГА в сочетании с ДМ является прямым индуктором апоптоза при добавлении в культуру изолированных субпопуляций Т-лимфоцитов. Наш взгляд, полученные результаты следует учитывать при *in vitro* моделировании инфекционных процессов с применением различных активаторов.

УДК 616-002.2 (571.27)

Арсентьева Н. А.

**ЦИТОКИНЫ И ХЕМОКИНЫ
КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ
МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО
ГЕПАТИТА С**

*ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера,
Санкт-Петербург*

Введение. Инфекция, вызываемая вирусом гепатита С (ВГС), приводит к хроническому заболеванию с длительной персистенцией возбудителя у 60–80% пациентов, которые в дальнейшем подвергаются риску развития цирроза, рака печени и тяжелых внепеченочных осложнений. Механизмы повреждения печени при хроническом вирусном гепатите С (ХВГС) остаются не полностью изученными. Для оценки клинического течения и определения стратегии лечения больных ХВГС важным является определение стадии фиброза печени и активности воспалительного процесса. В последнее время активно идет поиск биомаркеров сыворотки крови для выявления и описания фиброза печени, поскольку существующие методы (биопсия печени, биохимические маркеры, эластометрия и др.) имеют ряд ограничений и часто бывают недостаточными. Важная роль в процессах воспаления и фиброгенеза при развитии ХВГС принадлежит хемокинам – небольшим белкам (8–12 кДа), основная функция которых состоит в контроле клеточной миграции. Кроме того, хемокины принимают участие в тканевом гомеостазе, в развитии ткани, в частности, в продукции коллагена, ангиогенезе, процессах пролиферации и репарации. Количественная оценка содержания цитокинов/хемокинов в плазме крови больных ХВГС может дать информацию об иммунопатогенезе заболевания, его течения и прогнозе. Целью настоящего исследования стал анализ содержания цитокинов/хемокинов периферической крови больных ХВГС на разных стадиях заболевания.

Материалы и методы. Материалом исследования служила плазма крови. Пациентов с ХВГС (n=73), ранее не получавших противовирусную терапию, разделили на 3 группы в зависимости от степеней фиброза печени, которые соответствуют стадиям заболевания (F0-1 – слабо выраженный фиброз, F2 – умеренный фиброз, F3-4 – сильно выраженный фиброз, цирроз). Критериями исключения являлись: острый вирусный гепатит С, ВИЧ, вирусный гепатит В и другие сопутствующие тяжелые патологии, в том числе – алкоголизм и наркомания. Контрольную группу составили практически здоровые лица (n=37). Концентрации цитокинов/хемокинов: IFN α , IFN γ , IFN λ /IL28a, TNF α , CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β ,

CCL5/RANTES, CCL8/MCP-2, CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC определяли с помощью мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex, США), с использованием коммерческих тест-систем «Milliplex MAP» (Millipore, США), основанных на магнитных микросферах Milliplex Mag. Регистрацию и анализ данных проводили на приборе «Luminex MAGPIX» (Luminex, США). Статистическую обработку осуществляли с применением программы «GraphPad Prizm 6». Для оценки выборок использовали методы непараметрической статистики, в том числе – критерий Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты исследования. У пациентов с ХВГС, по сравнению с контрольной группой, выявлено повышение TNF α более чем в 1,5 раза (p<0,0001). TNF α – один из ключевых полифункциональных медиаторов воспаления, участвующий в том числе в цитотоксических реакциях и процессах фиброгенеза. Уровни хемокинов CCL2/MCP-1, CCL4/MIP-1 β , CCL8/MCP-2 у больных ХВГС, которые приводят к миграции в печень, в основном, неспецифических клеток иммунной системы, достоверно возрастали (p<0,05), как и CCL20/MIP-3 α (p=0,02). У пациентов с ХВГС значительно увеличивалась концентрация всех лигандов CXCR3, привлекающих в очаг воспаления активированные Т- и В-лимфоциты: CXCL9/MIG (p=0,001), CXCL10/IP-10 и CXCL11/ITAC (p<0,0001). Уровни изученных интерферонов IFN α , IFN γ , IFN λ не отличались в исследуемых группах.

По мере прогрессирования ХВГС и фиброзирование печеночной ткани значительно возрастали концентрации следующих цитокинов/хемокинов: TNF α , CCL2/MCP-1, CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG (r=0,47, p<0,0001; r=0,40, p<0,0001; r=0,20, p=0,0002; r=0,38, p=0,0001 соответственно). Особенно обращает на себя внимание прямая зависимость, обнаруженная между уровнями CXCL10/IP-10 и CXCL11/ITAC (r=0,68, p<0,0001; r=0,52; p<0,0001 соответственно) в плазме крови и степенью фиброза печени. Функции CXCL10/IP-10 и CXCL11/ITAC сводятся к привлечению и удержанию клеток, которые экспрессируют хемокиновый рецептор CXCR3 – в основном активированные Т-лимфоциты, Т- и В- клетки памяти, обладающие эффекторными функциями.

Концентрация IFN γ в плазме крови больных ХВГС со слабо выраженным фиброзом печени (F0-1) не отличается от группы здоровых доноров, что можно объяснить недостаточностью иммунного ответа вследствие подавления ВГС IFN γ -продуцирующих клеток на начальных стадиях заболевания и как следствие развитие хронического воспаления. Однако при выраженном фиброзе и циррозе печени (F3-4) наблюдалось резкое увеличение концентрации IFN γ в плазме крови, которое в 3 раза (p<0,05) превышало значения в группах здоровых доноров и больных ХВГС со слабым и умеренным фиброзом печени (F0-1, 2).

Также в плазме крови пациентов, инфицированных ВГС с выраженным фиброзом и циррозом печени (F3-4), в 2 раза увеличивалось содержание TNF α ($p < 0,0001$), по сравнению с больными ХВГС с умеренным фиброзом. Таким образом, возрастание в периферической крови больных ХВГС содержания IFN γ и TNF α можно рассматривать как признак прогрессирования фиброза печени.

Выводы. Концентрации хемокинов CXCL10/IP-10 и CXCL11/ITAC в плазме крови могут служить дополнительными иммунологическими критериями прогрессирования ХВГС. Уровни IFN γ и TNF α в плазме крови могут стать вспомогательными маркерами в дифференциальной диагностике ХВГС с выраженным фиброзом и циррозом печени. Данное исследование подтверждает значимость цитокинов/хемокинов в иммунопатогенезе ХВГС, в том числе в процессах фиброгенеза.

УДК 579.61

**Богумильчик Е. А.¹, Зуева Е. В.¹,
Афанасьев М. В.², Воскресенская Е. А.¹,
Климов В. Т.², Ценева Г. Я.¹**

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ
БАКТЕРИЙ ВИДОВ *YERSINIA
ENTEROCOLITICA*-LIKE
МЕТОДОМ MALDI TOF
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

¹ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург;

²ФКУЗ «Иркутский научно-
исследовательский противочумный
институт Сибири и Дальнего Востока»
Роспотребнадзора,
Иркутск

В настоящее время к так называемым близкородственным *Y. enterocolitica* (*Y. enterocolitica*-like) представителям рода *Yersinia* относят 10 видов (*Y. aldovae*, *Y. aleksiciae*, *Y. bercovieri*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. massiliensis*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, *Y. similis*). Указанное видовое разнообразие иерсиний осложняет идентификацию по фенотипическим признакам, и их часто определяют как *Y. enterocolitica* вследствие недостаточного количества биохимических тестов в коммерческих системах.

Методом MALDI TOF масс-спектрометрии (MALDI TOF MS) с использованием прибора MALDI-TOF MS серии Microflex™ LT (Bruker Daltonics, Германия) изучено 573 штамма вида *Y. enterocolitica* и 216 штаммов видов *Y. enterocolitica*-like, выделенных на территории России. По итогам проведенных исследований показана высокая дифференцирующая способность метода MALDI

TOF MS для определения принадлежности к роду *Yersinia* (100,0 % штаммов). Достоверная идентификация до вида (Score Value не менее 2,3 согласно инструкции) отмечена для 572 штаммов *Y. enterocolitica* (99,8 %), также для всех исследованных штаммов *Y. aleksiciae* (n=5) и *Y. mollaretii* (n=1). В то же время при исследовании 210 представителей видов *Y. enterocolitica*-like идентификация до вида (SV \geq 2,3) установлена только у 22,9 % штаммов *Y. kristensenii* (n=131), 13,5 % - *Y. intermedia* (n=52), 13,0 % - *Y. frederiksenii* (n=23), 25,0 % - *Y. bercovieri* (n=4). В остальных случаях штаммы видов *Y. enterocolitica*-like по данным метода MALDI TOF MS отнесены к *Y. enterocolitica*.

Используемая для идентификации база спектров программного обеспечения MALDI Biotyper 3.1. содержит 18 референсных спектров штаммов *Y. enterocolitica* и только по одному референсному спектру штаммов видов *Y. enterocolitica*-like. Таким образом, идентификация методом MALDI TOF MS иерсиний видов близкородственных *Y. enterocolitica* осложняется малым количеством референсных спектров таких видов в базе MALDI Biotyper, что показано на примере идентификации штаммов *Y. kristensenii*.

Видовая принадлежность всех штаммов *Y. kristensenii* подтверждена по биохимической активности, и для 25 штаммов – по последовательности гена 16S рПНК. Методом MALDI TOF MS 30 штаммов (22,9 %) *Y. kristensenii* идентифицированы до вида. Также, согласно значению SV \geq 2,3, пять штаммов (3,8 %) были отнесены к виду *Y. enterocolitica*. При этом шесть штаммов (4,6 %) имели спектральное сходство одновременно (SV \geq 2,3) и со штаммом *Y. enterocolitica ssp enterocolitica* (serovar O8) ATCC 9610T THL, и со штаммом *Y. kristensenii* DSM 18543T RKB, спектры которых содержатся в базе MALDI Biotyper. Для 68,7 % штаммов *Y. kristensenii* (n=90) не удалось провести дифференциацию между видами *Y. kristensenii* и *Y. enterocolitica* (SV<2,3).

Нами создана собственная проектная библиотека спектров *Y. kristensenii*, состоящая из спектров шести российских штаммов и референсного штамма IP7229 (коллекция института Пастера, Париж). Полученные спектры семи штаммов *Y. kristensenii* при построении дендрограммы формировали собственный кластер, в то время как спектр *Y. kristensenii* DSM 18543T RKB, отличаясь от них, кластеризовался с другими спектрами *Y. enterocolitica* базы MALDI Biotyper, что приводило к получению некорректной идентификации таких штаммов при использовании базы, содержащей только один референсный спектр *Y. kristensenii* DSM 18543T RKB. При повторной идентификации штаммов *Y. kristensenii* (n=120) с использованием созданной проектной библиотеки спектров все штаммы идентифицированы до вида, при этом получены высокие значения Score Value (\geq 2,3) для 82 % штаммов (n=98). Таким образом, расширение базы MALDI Biotyper за счет семи дополнитель-

ных спектров *Y. kristensenii* позволяет проводить более точную идентификацию штаммов этого вида.

УДК 616.9 (479.225)

Борисова О. Ю., Пименова А. С.,
Алёшкин В. А.

МИКРОФЛОРА РОТОГЛОТКИ У БОЛЬНЫХ С ТОНЗИЛЛОФАРИНГИТОМ

*Федеральное бюджетное учреждение науки
«Московский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г. Н. Габричевского» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Москва*

Введение. Проблема тонзиллофарингита сохраняет свою актуальность для современной оториноларингологической практики. Количество видов микроорганизмов при хроническом тонзиллите, включая анаэробные, по разным данным, колеблется от 100 до 160. Наибольшее прогностическое значение имеет -гемолитический стрептококк группы А, рассматривающийся в качестве важнейшего этиопатогенетического фактора в развитии хронического тонзиллита и его осложнений. Однако ассоциация хронического тонзиллита с -гемолитическим стрептококком группы А не носит видоспецифического характера. Попытки установления связи между течением хронического тонзиллита и фенотипическими характеристиками соответствующего штамма -гемолитического стрептококка группы А остаются безуспешными. Вместе с тем на сегодняшний день в литературе все чаще появляются данные о нарушениях в качественном и количественном составе нормобиоты ротоглотки. Дисбиоз слизистых оболочек описан и при других воспалительных заболеваниях, однако отношение между составом микробиоты и хроническим тонзиллитом неизвестно.

Цель исследования - изучить микробный пейзаж микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией.

Материалы и методы. Всего обследовано 79 больных, госпитализированных в Московский научно-практический Центр оториноларингологии им. Л. И. Свержевского (г. Москва) в период с сентября 2013 г. по апрель 2014 г. Из них 48,1 % были женщины и 51,9 % – мужчины. Возрастной состав обследованных пациентов представлен следующим образом: в возрасте 15–19 лет – 13,9 % больных, 20–29 лет – 36,7 % больных, 30–39 лет – 32,9 % больных, 40–49 лет – 10,1 % больных, 50–59 лет – 5,1 % больных и 60–69 лет – 1,3 %.

Среди обследованных больных 78,5 % пациентов были с различными формами хронического тонзиллита, они-то и составили основную группу, и 21,5% пациентов – с патологией полости носа без хронического тонзиллита (контрольная группа). Среди пациентов основной группы с хроническим тонзиллитом у 96,8 % больных был диагноз «хронический тонзиллит, токсико-аллергическая форма I степени» (ТАФ I), у 1,6% больных – «хронический тонзиллит, токсико-аллергическая форма II степени» (ТАФ II) и у 1,6% больных – «хронический тонзиллит».

Взятие материала из ротоглотки осуществляли с помощью стерильных одноразовых сухих коммерческих тампонов («Sorap», Италия). Доставка материала производилась в течение 2 часов с момента обследования пациентов, с соблюдением температурного режима. Посев патологического материала осуществляли на несколько питательных сред: кровяной агар с 20 % крови крупного рогатого скота, кровяно-теллуриновый агар с 10 % крови крупного рогатого скота (в качестве агаровой основы использовали сухой питательный агар), уриселект, желточно-солевой агар и среда Сабуро. Все посевы культивировали по стандартной методике, при температуре (37±1) °С, в течение 24–48 часов.

Идентификацию микроорганизмов производили по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам, а видовая идентификация труднокультивируемых микроорганизмов и коринебактерий осуществлялась масс-спектрометрическим методом с использованием времяпролетного масс-спектрометра BioMerieux VITEK MS MALDI-TOF. Идентификацию выделенных коринебактерий также производили путем амплификации гена *groB* с помощью полимеразной цепной реакции в соответствии с международными протоколами и путём последующего прямого секвенирования амплифицированных фрагментов. Результаты секвенирования обрабатывались с помощью программного обеспечения BLAST и ChromasLite (для формата хроматограммы), секвенированные последовательности сопоставляли с международной on-line базой данных EMBL/NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>).

Результаты и обсуждение. При изучении культур, выделенных от пациентов, обнаружено 159 штаммов, принадлежащих к 29 видам микроорганизмов. 98,7 % выделенных микроорганизмов, относящихся к 27 видам, были представлены грамположительной, а 1,3 % (2 культуры) – грамотрицательной флорой (*Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*). Среди грамположительных микроорганизмов 41,4 % микроорганизмов относились к роду *Streptococcus*, 19,7 % – к роду *Staphylococcus*, 36,9 % – к роду *Corynebacterium*, в единичном количестве выделены *Candida albicans* (2 штамма) и *Actinomyces viscosus* (1 штамм).

Наиболее многочисленной в микробном пейзаже выделенных микроорганизмов была группа микроорганизмов рода *Corynebacterium*, представленная 18 видами. При видовом типировании выявлены следующие виды коринебактерий: *C. tuberculostearicum*, *C. jeikeium*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. aurimucosum*, *C. amycolatum*, *C. xerosis*, *C. accolens*, *C. coyleae*, *C. macifaciens*, *C. durum*, *C. simulans*, *C. afermentans lipophilum*, *C. maris*, *C. genitalum*, *C. minutissimum*, *C. urealyticum*, *C. propinquum*, *C. pseudogenitalum*. Из них наибольший удельный вес имели *C. tuberculostearicum* (17,2 %), *C. pseudodiphtheriticum* (15,5 %) и *C. aurimucosum* (18,9 %).

Анализ микробного пейзажа показал, что 89 (56 %) культур были выделены у мужчин и 62 (39 %) культуры – у женщин, причем у женщин идентифицирована только грамположительная флора. Кроме того, в патологическом материале, полученном от мужчин, идентифицировано в 1,8 % раз больше видов микроорганизмов, чем от женщин. Обращает на себя внимание тот факт, что микробный пейзаж выделенных коринебактерий у мужчин был наиболее разнообразным, представлен 37 штаммами 17 видов коринебактерий, с удельным весом 41,6 %. В то время как у женщин идентифицировано 17 штаммов коринебактерий 9 видов с удельным весом в общем микробном пейзаже 27,4 %.

Исследование микробного пейзажа выделенных микроорганизмов в зависимости от возраста показало, что наиболее разнообразный спектр микроорганизмов идентифицирован от лиц молодого возраста – 20–29 и 30–39 лет. У лиц 40–49 лет, 50–59 лет и 60–64 лет отмечается постепенное уменьшение разнообразия выделенных микроорганизмов. Наиболее разнообразные изменения произошли в структуре выделенных коринебактерий. Так, у лиц 15–19, 20–29 и 30–39 лет идентифицировано 9 штаммов 8 видов представителей рода *Corynebacterium*, 21 штамм 11 видов и 17 штаммов 7 видов соответственно. Среди штаммов, выделенных от лиц 40–49 и 50–59-летнего возраста, регистрируется низкое разнообразие микробного пейзажа.

У 44,3 % обследованных пациентов микробный пейзаж представлен монокультурой и у 55,7 % пациентов выявлены ассоциации микроорганизмов. Анализ ассоциаций микроорганизмов показал, что в 20,5 % случаев ассоциации представлены штаммами представителей родов *Streptococcus* и *Staphylococcus*. Штаммы коринебактерий идентифицировали в 72,7 % случаев и только в ассоциациях микроорганизмов. Из них преобладающими были ассоциации из трех микроорганизмов (29,5 %), ассоциации из двух микроорганизмов составили 20,5 %, из четырех – 11,4 % и множественные ассоциации – 4,5 % случаев. Наиболее часто в ассоциациях встречались штаммы *C. tuberculostearicum* (22,7 %), *C. aurimucosum* (18,2 %), *C. pseudodiphtheriticum* (11,4 %) и *C. amycolatum* (11,4 %).

Изучение микробного пейзажа в зависимости от тонзиллярной патологии показало, что в основной группе преобладали монокультуры (в 43,4 % случаев), в то время как в контрольной группе наиболее часто встречались ассоциации микроорганизмов (до 56,6 %). При идентификации ассоциаций преобладали комплексы из двух и трех видов микроорганизмов.

Заключение. Проведенные исследования впервые позволили охарактеризовать микробный пейзаж у больных с тонзиллярной патологией, с молекулярно-генетической идентификацией 18 видов выделенных коринебактерий. Показано, что состояние ротоглотки прямо зависит от состава микробиоты: при выраженном патологическом процессе в микробиоте ротоглотки преобладает монокультура, в то время как наличие ассоциаций, обусловленных разнообразным микробным пейзажем, свидетельствует о менее выраженном патологическом процессе. Установлена тенденция уменьшения с возрастом разнообразия выделенных микроорганизмов.

УДК 616.33/.34-008.87

Вакатова Л. В., Гончарова А. В.

**МИКРОБИОЦЕНОЗЫ
ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО
ТРАКТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ
ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ
ЗОНЫ**

*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Республике Татарстан»,
Казань*

Введение. Воспалительные заболевания гастро-дуоденального тракта являются результатом взаимодействия между факторами окружающей среды, микрофлорой и генетическими особенностями организма, но их патогенез исследован недостаточно. Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта заселена микроорганизмами различных видов и представляет собой сложную экосистему. Различные патологические процессы, такие как снижение кислотности желудка человека, приводят к избыточному росту бактерий, под действием ферментов которых возрастает продукция нитрозаминов. Это, в свою очередь, приводит к повреждению ДНК и метилированию эпителиальных клеток, и, как следствие, в организме происходит запуск канцерогенеза.

Результаты последних исследований показывают, что желудочная микрофлора в основном представлена бактериями верхних дыхательных путей,

орофарингеальной зоны и кишечника. У здоровых лиц наиболее часто встречаются такие микроорганизмы, как *Proteobacteria*, *Veilonella*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, а также *Propionibacterium*, *Streptococcus* и *Staphylococcus*.

Этиологическая роль *Helicobacter pylori* в развитии таких заболеваний гастродуоденального тракта, как хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и 12-ти-перстной кишки, рак желудка, является признанной в научном сообществе. Сложности выделения, сохранения культуры, а также наличие первичной, вторичной и множественной устойчивости к антимикробным препаратам, высокая биологическая активность микроорганизма, обусловленная выработкой различных токсинов, ферментов агрессии, широкая распространенность среди населения, низкая эффективность эрадикации из-за вторичного инфицирования предопределяют проблему диагностики, лечения и профилактики *H. pylori* ассоциированных заболеваний.

Одним из перспективных направлений изучения патогенеза заболеваний гастродуоденального тракта является микроэкология микробных сообществ, симбиотические взаимодействия между микроорганизмами-комменсалами и патогенами, колонизирующими слизистую оболочку желудка, пищевода и 12-перстной кишки, а также с бактериальными популяциями транзитного происхождения из носоглоточной области и верхних дыхательных путей. Результаты таких исследований позволят наиболее полно изучить патогенез воспалительных заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта и разработать новые подходы к их профилактике и лечению.

Цель исследования. Изучение разнообразия микрофлоры у больных с воспалительными заболеваниями гастродуоденального тракта, в том числе ассоциированных с *H. pylori*.

Материалы и методы. Исследованы биоптаты слизистой оболочки желудка и пищевода, отобранные от 35 пациентов с хроническим гастродуоденитом, эрозивным гастритом, ГЭФР-болезнью желудка (ГЭГБ), язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки, а также другими заболеваниями гастродуоденального тракта при проведении диагностической ФЭГДС. Средний возраст больных составил 44 года. Используются культуральный, биохимический методы, масс-спектрометрия (Microflexaldi-ToF, Bruker, Germany).

Отобранные биоптаты помещали в пробирки с 5 мл транспортной тиогликолевой среды и в течение 1–2 часов с момента взятия материала доставляли в лабораторию. Для проведения бактериологического метода были использованы питательные среды с добавлением 5 % крови (колумбийский агар, эритрит агар). Культивирование проводили при 37 °С в течение 5 суток в микроаэрофильных и аэробных условиях. Чашки с посевами помещали в анаэробстат (АЭ-01, ООО «НИКИ-МЛТ», Россия), в котором микроаэрофильные условия созда-

вали с помощью специальных газогенерирующих пакетов (CampyGen, Oxoid, England).

Принадлежность выделенных культур к *H. pylori* подтверждали на основании изучения культуральных, морфологических и биохимических свойств. Колонии, выросшие на чашках, были прозрачные, влажные, блестящие, имели ровную округлую форму и крайне малый размер ($d \approx 1-2$ мм). В мазках с колоний обнаружены мелкие грамтрицательные неспорообразующие палочки изогнутой, С-образной формы.

Биохимическую активность культур определяли по трем основным тестам: тест на наличие фермента цитохромоксидазы (OXItest, Erba Lachema, Czech), тест на наличие фермента каталазы с использованием 3 % перекиси водорода, выявление уреазной активности с использованием жидкой среды с мочевиной по Кристенсену. Биохимический метод включал постановку уреазного теста с биоптатом.

Результаты. Бактериологическим методом культура *H. pylori* выделена в 37 % случаев. Микрофлора гастродуоденального тракта изучена с помощью масс-спектрометрии. Микробный пейзаж желудка представлен следующими видами: *Actinomyces* sp., *Arthrobacter polychromogenes*, *A. scleromae*, *Bacillus mojavensis*, *B. licheniformis*, *Candida* sp., *Colletotrichum* sp., *Corinebacterium durum*, *H. pylori*, *Kocuria rosea*, *Lactobacillus* sp., *Mycoplasma*, *Neisseria flavescens*, *N. perflava*, *N. subflava*, *Pseudomonas* sp., *Rothia mucilaginosa*, *R. nasimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staph. hominis*, *Staph. warneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Str. salivarius*, *Str. dysgalactiae*, *Streptomyces griseus*, *Thauera* sp. При всем разнообразии представленной бактериальной флоры были выявлены популяции преимущественно орофарингеального происхождения и из верхних дыхательных путей.

При изучении состава микрофлоры в группах больных *H. Pylori*, инфицированных и неинфицированных, были выявлены некоторые закономерности. В частности, в обеих группах обнаружены бактерии следующих родов: *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corinebacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*. В группе *Helicobacter*-положительных обнаружены грибы *Candida*, *Colletotrichum*, бактерии родов *Thauera*, *Mycoplasma*.

При исследовании биоптатов пищевода микробный пейзаж был менее разнообразен при сравнении со слизистой оболочкой желудка. Среди микроорганизмов, колонизирующих пищевод, выявлены условно-патогенные бактерии рода *Neisseria*, *Gemella* и вида *Rothia mucilaginosa*.

Гемолитической активностью обладали культуры, выделенные при микроаэрофильном культивировании, в 48 % случаях, в 24 % случаях – при аэробных условиях.

Заключение. Исследования микробиоценозов различных биотопов желудочно-кишечного тракта (пищевода, желудка) у больных хроническими

воспалительными заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта позволяют предположить наличие связи дисбиотических нарушений с развитием патологических морфологических изменений. Выявление закономерностей колонизации гастродуоденальной зоны различными микроорганизмами, симбиотических взаимодействий между ними и *H. pylori* открывают перспективу для создания новых диагностических и терапевтических подходов в тактике ведения больных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

УДК 616.24-000.5:616-07.

Васильева Е. В., Вербов В. Н., Тоголян А. А.

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

*ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург*

Для предупреждения распространения туберкулеза (ТБ) большое значение имеет своевременная и достоверная диагностика. Перспективным направлением для совершенствования методов клинической диагностики туберкулеза является идентификация биомаркеров в венозной крови. Цель исследования: поиск информативных иммунологических маркеров и разработка алгоритма, позволяющего дифференцировать активный ТБ легких от латентной туберкулезной инфекции (ЛТБИ).

В исследование были включены больные с впервые выявленным туберкулезом легких до начала специфической противотуберкулезной терапии, здоровые доноры и группа контактных лиц, имеющих длительный контакт с больными ТБ. Всем лицам, включенным в исследование, определяли содержание в плазме крови неоптерина (IBL, Германия), специфических антител класса IgG (ПТА) (ИФА-анти-ТУБ, Россия) и выполняли «QuantiFERON-TB Gold In-Tube» (КФТ). Помимо IFN мы определяли спонтанную (NIL) и антигениндуцированную (AG) продукцию 12 анализов (EGF, MIP-1, VEGF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-1, IFN 2, TGF, TNF, sIL-2R, sCD40L) с помощью технологии xMap («Millipore», США) и IP-10 иммуноферментным методом (Bender Medsystems, Австрия). Для статистической обработки полученных данных использовали пакеты программ MS Excel, SPSS (версия 13.0), Prism 5.0 (GraphPad Software Inc.), JMP 9.0.

Установлено, что для диагностики инфицирования КФТ является наиболее информативным тестом. При дифференциальной диагностике ла-

тентной и активной туберкулезной инфекции наибольшей значимостью обладает выявление ПТА, после чего следует НПТ. Специфичность КФТ для решения этой задачи ничтожна. В результате проведения мультиплексного анализа было установлено, что IP-10_{AG-NIL} и IL-2_{AG-NIL} могут служить биомаркерами, альтернативными IFN_{AG-NIL}, которые позволяют работать в более широком диапазоне определяемых концентраций и при более высоких пороговых значениях. Построение дерева решений в программе JMP 9.0 позволило выбрать три наиболее значимых маркера: IFN_{AG-NIL}, TGF_α_{NIL} и IL-6_{AG}, комбинированное определение которых позволило выявить 96,3 % (26 из 27) случаев активного туберкулеза и 80,7 % (21 из 26) случаев ЛТБИ.

На основании полученных результатов нами предложен двухступенчатый алгоритм иммунологической диагностики ТБ. На первом этапе предлагается проводить количественное измерение специфической продукции IFN_γ, IP-10 или IL-2, тем самым выявляя контингент лиц, инфицированных микобактериями. На втором этапе для определения активности туберкулезного процесса применять комбинацию IFN_γ, TGF_α и IL-6 или определять содержание НПТ и ПТА в сыворотке крови.

УДК 616.9(479.225)

Воропаев В. В.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ БЕЛКОВЫХ ЭКСТРАКТОВ ВЕГЕТАТИВНЫХ КЛЕТОК *BACILLUS ANTHRACIS*, ВЫРАЩЕННЫХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Белковое профилирование микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) в последнее время получило широкое распространение благодаря легкости использования, скорости и возможности проводить надежную идентификацию до рода и даже до вида. Однако общедоступные базы данных, такие как, «Bruker taxonometry», содержащая более 4000 масс-спектрометрических белковых профилей, ограничиваются микроорганизмами, относящимися к 3-4 группам патогенных биологических агентов (ПБА). Таким образом, идентификация возбудителей, относящихся к 1-2 группам ПБА, невозможна с использованием указанной базы данных в

связи с отсутствием референтных белковых масс-спектров, на основе которых можно было бы проводить идентификацию. Поэтому определение референтных белковых профилей микроорганизмов, относящихся к 1-2 группам ПБА, является важной и первоочередной задачей. Наличие референтных белковых профилей фенотипически отличающихся штаммов возбудителей 1-2 группы ПБА позволило бы использовать MALDI-TOF MS не только для быстрой идентификации до рода и вида, но и обеспечило бы при детальном анализе масс-спектров возможность внутривидового типирования.

Метод MALDI-TOF MS масс-спектрометрии обладает высокой чувствительностью и позволяет измерить массу вещества в концентрации от 1 пмоль, что дает возможность не только обнаружить слабо представленные биомолекулы, но и выдвигает высокие требования к чистоте анализируемой культуры микроорганизма, а также жесткие условия для их культивирования.

Целью работы было изучить влияние питательной среды и времени инкубирования на белковый масс-спектрометрический профиль штаммов *B. anthracis*.

Для оценки вариабельности масс-спектрометрического белкового профиля в зависимости от длительности и среды культивирования провели исследование 4 штаммов *B. anthracis*: 81/1, 228, 14/41 и СТИ. Из изолированной колонии 18-часовых культур изучаемых штаммов *B. anthracis* на агаре Хоттингера пересекали параллельно на агар Хоттингера, агар Хоттингера с кровью барана, LB-агар и ВНИ-агар.

Для получения масс-спектров использовали 18- и 24-часовые культуры с последующим обеззараживанием и пробоподготовкой согласно МР «Обеззараживание и подготовка проб исследуемых культур возбудителя сибирской язвы при работе методом времяпролетной масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией/ионизацией». Работы с возбудителем сибирской язвы проводились в соответствии с действующими санитарными правилами СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Профилирование экстрактов вегетативных клеток возбудителя сибирской язвы проводили с использованием масс-спектрометра «Bruker Daltonics Microflex». Измерение проводили в линейном режиме с ускоряющей мощностью 20 kV (источник ионов 1) и 18,7 kV (источник ионов 2). Напряжение на фокусирующей линзе 9 kV. Время задержки анализатора 150 нсек. Масс-спектр был получен в диапазоне 2000–20000 Да. В качестве калибранта использовали «Bacterial Test Standart Bruker Daltonics».

Спектры каждого штамма получали путем 20-кратного накопления, после чего обрабатывали и анализировали в программе «FlexAnalysis». В результате сравнения пик-листов одного штамма

с разными сроками культивирования, полученных в автоматическом режиме, было выявлено большее разнообразие фиксируемых пиков в экстракте 18-часовой культуры по сравнению с 24-часовой. При этом визуальный анализ указанных масс-спектров путем их наложения показал совпадение в масс-спектре экстракта 24-часовой культуры всех пиков с имеющимися пиками экстракта 18-часовой культуры, однако многие из них имели более низкую интенсивность сигнала и не распознавались программой при одинаковых условиях поиска.

В ходе выполнения эксперимента был проведен сравнительный анализ масс-спектрометрических профилей экстрактов каждого из 4 штаммов, выращенных на разных средах для культивирования. В результате выявлено, что масс-спектрометрические профили конкретного штамма, выращенного на разных средах, существенно отличались как визуально, так и по результатам анализа пик-листов. Наибольшая интенсивность и количество пиков наблюдались у культур, выращенных на кровяном агаре.

У культур, полученных на LB-агаре, ВНИ-агаре и агаре Хоттингера, выраженность MS-пиков у разных штаммов варьировала по интенсивности и количеству, что, возможно, связано с различиями в экспрессии отдельных компонентов экстракта конкретного штамма, определяемыми составом питательной среды. При этом следует брать во внимание, что масс-спектрометрические профили экстрактов вегетативных клеток, выращенных на LB-агаре, не имели существенных различий между собой на разных сроках культивирования для штаммов *B. anthracis* 228 и СТИ, т. е. белковый профиль в меньшей степени зависит от срока культивирования, чем от используемой питательной среды.

Проведенное исследование показывает преимущества использования кровяного агара с целью получения большого разнообразия пиков при белковом профилировании возбудителя сибирской язвы методом MALDI-TOF MS. Однако следует также учитывать непостоянство состава как кровяного компонента, так и питательной основы агара Хоттингера, что может привести к расхождению масс-спектрометрического профиля одной и той же культуры, выращенной на питательной среде из разных партий. Таким образом, при масс-спектрометрическом профилировании, особенно при получении референтных спектров, следует использовать среды с максимально стабильным составом компонентов, какими являются LB-агар и ВНИ-агар. Также вследствие зависимости интенсивности пиков от времени культивирования при определении в автоматическом режиме следует использовать 18- часовую культуру *B. anthracis*, у которой интенсивность пиков максимальна.

УДК 579.852.11:579.91:616-078

**Воропаев В. В., Головинская Т. М.,
Цыганкова О. И.****ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО
СОСТАВА ВОЗБУДИТЕЛЯ
СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ
ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
К СПЕЦИФИЧЕСКИМ
БАКТЕРИОФАГАМ***ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

В соответствии с МУК 4.2.2413-08 определение чувствительности к специфическому бактериофагу является одним из основных опорных тестов, позволяющих идентифицировать штаммы сибиреязвенного микроба.

Оценка результатов теста на лизабельность специфическими бактериофагами проводится визуально по характеру изменений газонного роста тестируемой культуры. В положительных случаях выявляется зона лизиса культуры, в пределах которой полностью отсутствует рост культуры. При отрицательном результате газонный рост культуры остается абсолютно неизменным. Однако в некоторых случаях внутри круга, отмечающего контуры зоны нанесения препарата бактериофага, наблюдается рост сибиреязвенных культур в виде «пленки». Это позволило предположить неоднородность состава популяции культуры по чувствительности в отношении различных сибиреязвенных бактериофагов.

Целью работы явилось изучение состава популяции сибиреязвенных штаммов по чувствительности к специфическим бактериофагам.

Для определения чувствительности возбудителя сибирской язвы к специфическим бактериофагам в своей работе использовали чашечный метод. Были отобраны штаммы *Bacillus anthracis*: 5/1, 505/628, 542/151, 592/10, 646/294, 1194, 1198, 1204, WAUm 44, у которых в зонах лизиса наблюдали рост культуры в виде «пленки». Споры этих штаммов отсеивали на чашки Петри с агаром Хоттингера (рН 7,4). После инкубации через 24 ч, при температуре 37 °С, определяли морфологию колоний невооруженным глазом и под малым увеличением в микроскопе. При изучении морфологии колоний отмечали две разновидности: 1 – колонии шероховатые, с неровными краями, с отростками, переходящими в завитки в виде «локонов волос» (I тип); 2 – колонии шероховатые, круглые, край колоний более сглажен с очень мелкими завитками (II тип).

В литературе имеются данные, что по морфологии колоний на агаре Хоттингера (независимо от способности образовывать капсулу) штаммы культур сибиреязвенного микроба могут иметь

различные варианты [Цыганкова О. И., 1993, 2007; Маринин Л. И., с соавт., 2009].

Отобранные формы колоний обоих типов проверили на чувствительность к различным бактериофагам (Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, Гамма А-26, 186, ВА-9, Саратов и К ВИЭВ). В результате оказалось, что колонии I типа лизировались всеми бактериофагами, а колонии II типа – только фагами Гамма А-26, ВА-9; R/D-Ph-6.

Таким образом, в результате проведенных исследований были выявлены различия в чувствительности к литическому действию сибиреязвенных бактериофагов некоторых штаммов *B. anthracis*, имеющих в популяции разновидности по культурально-морфологическим свойствам. Важно отметить, что выявленные два типа колоний лизировались бактериофагом Гамма А-26, коммерческий выпуск которого налажен в нашем институте.

УДК 616.9

**Гаркуша Ю. Ю., Дикова С. П.,
Газиева А. Ю., Ефременко Д. В.,
Кальной С. М.****УНИФИЦИРОВАННАЯ УКЛАДКА
ДЛЯ ЗАБОРА И ТРАНСПОРТИРОВКИ
ПРОБ БИОМАТЕРИАЛА И
ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ
СРЕДЫ С ЦЕЛЮ ПРОВЕДЕНИЯ
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ***ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

При проведении эпидемиологического расследования в очагах ООИ возникает необходимость отбора проб материала, подозреваемого в качестве возбудителя передачи инфекции. К сохранению, упаковке и транспортировке проб предъявляются требования, направленные на обеспечение основной цели – выделение возбудителя инфекций. Известны укладки различной вместимости, рекомендованные для относительно длительного сохранения проб материала при пониженной температуре за счет надежной термоизоляции, применения охлаждающих элементов или химических веществ. В то же время есть основания считать рациональным помещать некоторые пробы сразу после их отбора в условия термостата для подрачивания микроорганизмов, находящихся в пробе. Следует отметить, что в настоящее время упаковок, обеспечивающих создание условий, адекватных температуре подрачивания микроорганизмов (чаще это 37 °С) и/или сохранения материалов проб при пониженной температуре, не производится, что, в

первую очередь, связано с техническими трудностями.

Современное развитие электроники способствует применению программируемых и управляемых технических устройств и использованию отдельных комплектующих узлов (охлаждающих и нагревательных элементов, терморегуляторов) в специализированных конструкциях для транспортировки проб.

Нами предложен макет унифицированной укладки для транспортировки проб объектов для бактериологического исследования (укладка) с обеспечением максимального уровня биологической безопасности на этапах отбора проб и их транспортировки.

В основу укладки входит емкость 450×200×370 мм из оцинкованной жести с двухъярусными раздвигающимися компартментами в виде крышки, тремя убирающимися алюминиевыми стойками для размещения укладки на местности или в помещении, наружной термоизоляцией поверхности модели термопокрытием с алюминиевой фольгой, дополнительной внутренней термоизоляцией каждого из двух компартментов (охлаждающего и термостатирующего), расположенных у торцевых стенок емкости, выдвижным рабочим столиком в виде алюминиевой прямоугольной пластины, поддерживаемой косынкой. Снаружи, поверх термоизоляции, ящик укладки и её компартменты закрыты прорезиненным чехлом с металлической застежкой-молнией. Охлаждающий и термостатирующий компартменты снабжены термометрами и соответственно обеспечены предварительно охлажденными элементами и терморегулятором с нагревательным элементом (12 вольт). Масса укладки в снаряженном состоянии, без материала проб составляет 11,0 кг. Конструктивные решения отдельных узлов и компартментов укладки основывались на возможности простой и быстрой модификации укладки в отношении как отбора разнородных проб, с одной стороны, так и достижения максимально удобных условий работы персонала – с другой. Укладка защищена патентом РФ на полезную модель № 125976 (2013).

Укладка предназначена для использования в работе специализированных противоэпидемических бригад в условиях чрезвычайных ситуаций, эпидемиологическом и эпизоотологическом обследовании очага инфекционных болезней. Использование укладки на практике направлено на реализацию основной цели: получение достоверных данных о наличии патогенов (возбудителей инфекций и/или ДНК-последовательностей, кодирующих продукцию факторов патогенности) у человека, животных, в объектах окружающей среды.

УДК 579.841.95:616-074:616.9-036.2

**Гнусарева О. А., Куличенко А. Н.,
Зайцев А. А., Рыбалко Т. И.,
Шаяхметов О. Х.**

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АЛГОРИТМА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ НА ТУЛЯРЕМИЮ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Резервуарами и переносчиками возбудителя туляремии часто служат иксодовые клещи (ИК) [Туляремия. В кн.: Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. М.; 2009. С. 142-169]. Инструктивно-методическими документами рекомендовано их исследовать на туляремию биологическим методом (БМ) в сочетании с полимеразной цепной реакцией (ПЦР), а также иммунохроматографическим тестом (ИХ-тест) или РНАт [Эпидемиологический надзор за туляремией. МУ 3.1.2007-05; Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. МУ 4.2.2939-11]. Применение одновременно всех методов в полном объеме обеспечивает высокую достоверность результата, но требует больших экономических затрат. Поэтому упрощение анализа является актуальной задачей.

Цель исследования: оптимизация алгоритма лабораторной диагностики при исследовании ИК на туляремию за счет сокращения объема методов при соблюдении точности анализа при эпизоотологическом мониторинге природного очага туляремии.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили суспензии взрослых ИК в 0,01 М натрий-фосфатном буфере, pH 7,2 – 7,4. Как правило, пробы были групповые. Клещей растирали в объеме 2,5 мл. Наконечником с фильтром переносили 1,0 - 1,2 мл гомогенизированной пробы в микроцентрифужную пробирку для исследования. Отобранный материал делили на 2 части по 0,5 - 0,6 мл. Одну часть оставляли в холодильнике при 4-6 °С для продолжения исследования, с другой – проводили исследования методами ПЦР и РНГА-РНАт. Для более продолжительного хранения остаток пробы замораживали при температуре минус 20 °С.

Отобранный для первичного скрининга материал переносили в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл и центрифугировали 5 мин при 12000 об/мин для осветления пробы. Супернатант делили на две части. Одну часть (300 мкл) исследовали

довали в РНГА-РНAt, а другую (100 – 200 мкл) – в ПЦР.

Для постановки РНГА – РНAt использовали соответственно наборы реагентов «РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ» и «РНГА-Тул–Аг-СтавНИПЧИ». Постановку РНГА – РНAt осуществляли микрометодом в объеме 0,05 мл. Суспензии ИК титровали в 4 лунках с шагом 1/2. Исследование методом ПЦР проводили с использованием мультилокусной тест-системы, разработанной в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, с праймерами комплиментарными участкам мобильного элемента *ISFtu2* и генов *23 kDa*, *forA* [Зайцев А.А. с соавт., 2012]. Чувствительность ее составляла 1×10^3 м.к./мл. Исследование биологическим и бактериологическим методами проводили в соответствии с инструктивно-методическими документами.

После первичного скрининга материал из пулов ИК с положительными результатами в ПЦР и ПЦР + РНГА-РНAt - исследовали индивидуально биологическим методом. Для постановки индивидуальной биопробы 0,4 мл взвеси оставленного нативного материала вводили подкожно по 0,2 мл двум белым мышам.

Пулы ИК, в которых не были обнаружены антиген и (или) ДНК туляремийного микроба, группировали из расчета по 0,1 мл нативного материала из каждого пула, но не более 50 экз. ИК на одну биопробу.

Результаты и обсуждение. В течение 2012 г. на территории 14 районов Ставропольского края, в природном очаге туляремии степного типа исследовано 10312 экз. ИК. Перед проведением первичного скрининга они были сгруппированы в 1267 пулов. В пулах *Dermacentor marginatus* из Грачевского и Андроповского районов зарегистрированы положительные результаты в ПЦР, РНГА-РНAt, а затем из них выделены культуры *Francisella tularensis*. В восьми пулах ИК *D. marginatus* и *D. reticulatus* были получены положительные результаты в ПЦР, но отрицательные в РНГА-РНAt и БМ.

В период марта-июня 2013 г. на территории 14 районов Ставропольского края в природном очаге туляремии степного типа исследовано 6786 экз. ИК. Перед проведением первичного скрининга они были сгруппированы в 950 пулов. В пулах *Rhipicephalus rossicus* из Красногвардейского и *Hyalomma marginatum* Туркменского районов зарегистрированы положительные результаты в ПЦР, РНГА-РНAt, а затем из них выделены культуры *F. tularensis*. В двух пулах ИК (*D. marginatus* и *Ixodes ricinus*) получены положительные результаты в ПЦР, но отрицательные в РНГА-РНAt и БМ.

Условно пулы ИК по степени инфицированности были разделены на три группы. Первую группу составили 4 пула с положительными результатами в ПЦР, РНГА-РНAt и выделенной культурой *F. tularensis* через биопробу. Вторую группу – 10 пулов, в которых обнаружена только ДНК воз-

будителя туляремии. Третью группу – 2203 пула из 16954 ИК, в которых отсутствовали возбудитель туляремии, его антиген и ДНК.

Проведенные исследования показали, что лабораторный анализ следует начинать с постановки ПЦР, учитывая ее высокую чувствительность и диагностическую значимость. Пулы с положительными результатами в ПЦР подлежат исследованию в РНГА-РНAt, а затем БМ.

Выделение возбудителя туляремии из пулов ИК первой группы показало необходимость исследования их биологическим методом для выделения туляремийного микроба с высокой степенью вероятности. Из пулов ИК второй группы туляремийный микроб не был выделен, но такая вероятность имеется, поэтому они подлежат исследованию в БМ. Третья группа пулов ИК оказалась самой многочисленной. Культура возбудителя в ней не обнаружена. По результатам статистического анализа вероятность отрицательного ответа БМ исследования в последней группе составляет 99,36 %. Очевидна нецелесообразность постановки биопроб с материалом этой группы. Для 100 % гарантии отсутствия возбудителя в материале из третьей группы ее пулы следует исследовать после максимально возможного объединения ИК до 50 экз. в один пул.

Использование ПЦР и системы серологических реакций РНГА-РНAt для проведения первичного скрининга суспензий ИК позволило сократить объем постановки биопроб за счет максимального объединения пулов в пробу для БМ, а значит, повысить экономичность лабораторной диагностики при сохранении высокой достоверности. Результативность такого алгоритма подтверждена выделением 4 штаммов *F. tularensis* при эпизоотологическом мониторинге природного очага туляремии степного типа Ставропольского края в 2012-2013 гг.

УДК: 579.843.1:57.089.33:616-074

Евдокимова В. В., Алексеева Л. П.,
Кретенчук О. Ф., Бурша О. С.,
Кругликов В. Д., Архангельская И. В.

**АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ
МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ
К ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНЫМ
ПОВЕРХНОСТНЫМ АНТИГЕННЫМ
ДЕТЕРМИНАНТАМ ХОЛЕРНЫХ
ВИБРИОНОВ O1 И O139 СЕРОГРУПП**

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Значимое место в борьбе с холерой принадлежит лабораторной диагностике, эффективность которой напрямую зависит от быстроты и точности используемых методов. Поэтому сохраняется актуальность совершенствования имеющихся и разработки новых средств лабораторной диагностики холеры и, в частности, иммунодиагностики как одного из наиболее технически простых и экспрессных методов детекции бактериального патогена (Терёшкина Н.Е., Михеева Е.А., Девдариани З.Л. и др., 2010 г). Эффективная иммунодиагностика возбудителя холеры может быть осуществлена только с применением высокоспецифичных антител. Диагностические антитела лошадиного происхождения, которые на сегодняшний день применяются в лабораторной практике холеры, гетерогенны по специфичности и содержат антитела к нескольким антигенам, общим для холерных вибрионов независимо от серотипо- или биоваропринадлежности (Сырова Н.А., 2005 г). В связи с этим существует необходимость дополнить современные иммуносерологические тесты высокоспецифичными антителными диагностикумами. Особую ценность в данной области имеет гибридная биотехнология, позволяющая получать высокоаффинные антитела уникальной специфичности к отдельным антигенным детерминантам диагностически значимых антигенов *V. cholerae*. Применение моноклональных антител (МКА) исключает проблему специфичности, которая не может быть решена при помощи поликлональных реагентов, и обеспечивает высокую чувствительность и воспроизводимость приемов иммуноанализа.

Среди серологических методов наиболее перспективными считают различные модификации твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА), особенно – его дот-варианта (ДИА), преимущество которых заключается в высокой информативности, простоте технического выполнения и регистрации полученных результатов, экспрессности анализа, стабильности реагентов, относительной дешевизне тест-систем. До настоящего времени использование иммуноферментного

анализа как экспрессного метода на различных этапах диагностики холеры не предусмотрено методическими указаниями в связи с отсутствием коммерческих отечественных тест-систем и высокой стоимостью импортных диагностикумов.

Принимая во внимание, что прямой вариант «сэндвич»-ИФА более быстрый по времени и менее затратный по сравнению с непрямым ИФА, в лаборатории ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора разработаны и сконструированы экспериментальные серии пероксидазных конъюгатов на основе видоспецифических моноклональных антител (МКА), направленных к эпитопам О-полисахарида холерных вибрионов O1 серогруппы (ПХ-МКА O1) и соответственно серогруппы O139 (ПХ-МКА O139). Моноклональные конъюгаты показали в ТИФА и дот-ИФА высокую чувствительность и строгую специфичность в отношении штаммов *V. cholerae* O1, *V. Cholera* O139 при отсутствии перекрестных реакций с представителями близкородственных и гетерологичных микроорганизмов (Евдокимова В. В., Кретенчук В. В., Алексеева Л. П., 2014 г).

С целью расширения набора моноклональных антител к антигенным детерминантам диагностически значимых антигенов *V. cholerae* нами было проведено две гибридизации. Для иммунизации мышей Balb/c, служащих донорами иммунных спленоцитов, использовали цельные клетки токсигенного штамма *V. cholerae* El Tor 13020 (Инаба), обеззараженные кипячением в течение 20 минут. В качестве партнера для слияния применяли клеточную линию миеломы мыши P3X63Ag8.653. Все процедуры по получению гибридных культур, клонированию, культивированию и хранению выполнялись в соответствии с «Методическими рекомендациями по получению гибридом-продуцентов МКАт к бактериальным антигенам» (Свиридов В. В. и др., 1986 г). Тестирование антителопродуцирующих гибридов проводили в непрямом ТИФА с использованием целых микробных клеток штамма *V. cholerae* 13020. Мышинные иммуноглобулины выявляли пероксидазным конъюгатом BioRad (США).

В результате многократных скринингов, полученных гибридом, и их клонированных вариантов отобрали 9, которые показали при длительном культивировании стабильную антителопродукцию и хорошие ростовые свойства. Частоту представленности антигенных детерминант, узнаваемых соответствующими им МКА, определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа в составе поверхностных структур широкого набора штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп из коллекции музея живых культур. По результатам ИФА МКА разделили на две группы: 1-я – МКА H2, F11, G3, E5, B6 – вступали в реакцию с клетками токсигенных вибрионов Эль Тор ctx+tcp+, выделенными от человека; 2-ая – МКА A5, B3, D6, F5 – взаимодействовали с клетками вибрионов Эль Тор, независимо от наличия генов ctx,

tcp и источника выделения. С целью определения эпитопной направленности МКА их исследовали в непрямом твердофазном иммуноферментном анализе и в иммуноблоттинге, используя в качестве антигена как липополисахарид (ЛПС) холерных вибрионов O1 серогруппы, так и цельные клетки. Электрофорез бактериальных взвесей и препарата ЛПС *V. cholerae* O1 проводили по Laemmli U. K. (1970). Постановку иммуноблоттинга осуществляли и согласно методике, описанной Н. Towbin et al (1984).

При постановке ИФА, где на твердую фазу сенсibilizировали очищенный препарат ЛПС *V. cholerae* El Tor 5879 O1, у всех полученных МКА зарегистрирована отрицательная реакция. В качестве положительного контроля использовали МКА гибридомы F8G12, направленные к эпитопам O-антигена холерных вибрионов O1 серогруппы. Отсутствие специфической реакции исследуемых МКА с препаратом ЛПС также подтвердилось и при проведении иммуноблота, так как не были выявлены специфические окрашенные зоны на нитроцеллюлозной мембране (НЦМ).

В связи с тем, что полученные нами МКА были разделены на две группы по взаимодействию с ctx^+ и ctx^- штаммами холерных вибрионов, необходимо было решить вопрос о локализации узнаваемых ими эпитопов при помощи иммуноблота токсигенной и нетоксигенной культуры *V. cholerae* O1 с моноклональными антителами. С этой целью клеточные лизаты штаммов *V. cholerae* El Tor 13020 ctx^+ tcp^+ и 19435 ctx^- tcp^- , а также *V. cholerae* O139 16077 ctx^+ tcp^+ подвергали электрофорезу в ПААГ с Na-ДДС с последующим переносом на НЦМ и проведением иммуноблоттинга. Общие для токсигенного и нетоксигенного штаммов эпитопы выявляли МКА А5 и В3 в районе маркерных белков 40–42 кДа, D6 в виде тонкой полосы на уровне примерно 70 кДа. МКА гибридомы F5 у вирулентного штамма выявляла 3 полосы: 40–42, 14 и 10 кДа, у авирулентного штамма эта же гибридома выявляла только две нижние полосы – 10 и 14 кДа. МКА гибридом H2, F11, G3, E5, B6 взаимодействовали только с токсигенным штаммом, образуя интенсивную полосу, локализованную на уровне маркерных белков 40–42 кДа. Некоторыми отечественными авторами (Николаев В. Б., Марков Е. Ю., Урбанович Л. Я., 2007 г.) при исследовании полипептидного профиля наружных мембран вирулентных и авирулентных штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп показано, что полипептиды с молекулярной массой 35–46 кДа обнаружены у всех штаммов *V. cholerae* O1 и O139 – это придает электрофореграммам характерный вид. Из всего состава мажорных белков наружных мембран (БНМ) наибольшим уровнем экспрессии отличаются белки, мигрирующие в виде комплекса полипептидов с молекулярной массой 37–42 кДа. После проведения переноса белков из геля на НЦМ мембрана была покрашена красителем Ponceau S, в результате чего у всех трёх штаммов

визуализировалась интенсивная белковая полоса на уровне 40–42 кДа. На блотограмме клеточного лизата холерных вибрионов и МКА присутствуют интенсивные полосы на уровне 40–42 кДа; исходя из этого, мы можем полагать, что полученные нами МКА специфически взаимодействуют именно с определенными белками наружных мембран. Так как 1-я группа МКА, взаимодействующие в ИФА преимущественно со штаммами ctx^+ tcp^+ , выделенными от человека, на блотограмме не выявляют антиген 40–42 кДа, мы полагаем, что по ряду белков наружных мембран токсигенные штаммы могут отличаться от БНМ нетоксигенных вибрионов. Белки наружных мембран у холерных вибрионов O139 серогруппы отличаются более высокой гетерогенностью в сравнении с вибрионами O1, что отражается на электрофореграмме после переноса на мембрану и окраски ее красителем Ponceau S. При постановке иммуноблоттинга клеточного лизата *V. cholerae* O139 16077 с МКА на блотограмме выявляюся, помимо основной интенсивной полосы 40–42, несколько полос в диапазоне 20–37 кДа.

Таким образом, в результате проведенных исследований получена панель гибридом-продуцентов МКА, направленных к поверхностным терморезистентным эпитопам токсигенных и атоксигенных холерных вибрионов Эль Тор и O139. Среди них не выявлены эпитопы, принадлежащие ЛПС O1, так как он не вступал в реакцию с испытуемыми МКА. В то же время впервые в массовую культуру выведены гибридомы-продуценты МКА, имеющие диагностическую ценность, так как с их помощью возможна детекция токсигенных штаммов холерных вибрионов Эль Тор и O139 и анализ комплементарных им эпитопов, химическую природу и направленность которых предстоит выяснить в дальнейших исследованиях. Также на основании иммунобиологической характеристики МКА представляется возможным получить ответ на вопрос, каковы функциональные свойства терморезистентных антигенов, локализованных на поверхности холерных вибрионов O1. Кроме того, применение в ИФА и иммуноблоттинге набора МКА, направленных к различным антигенным детерминантам возбудителя холеры, является перспективным и при диагностике глубоко измененных по антигенной структуре штаммов холерных вибрионов, а также некультивируемых форм *V. cholerae*. Продолжение экспериментальной работы направлено на расширение панели МКА за счет Инаба- и Огава-специфических антител для разработки на их основе пероксидазных конъюгатов и других иммунодиагностических тестов.

УДК 578.7 (578.825) (616.98)

Иванова Н. А., Смирнова С. С.,
Степанова К. Б., Степанова Т. Ф.

**ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ
АНТИТЕЛ М И G
К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ
В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ
ГРУППАХ**

*ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора,
Тюмень*

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) – широко распространенная инфекция человека с различным механизмом передачи. ЦМВИ вызывается вирусом герпеса 4 типа. У лиц с иммунодефицитными состояниями ЦМВИ протекает с развитием тяжелых клинических форм (гепатит, менингит, энцефалит). ЦМВИ является «оппортунистической» инфекцией при СПИДе. ЦМВИ диагностируется среди детей и среди взрослых (Хунафина, 2011; Луценко, 2012). Данный вирус способен длительно, в течение всей жизни персистировать в организме человека, периодически активизируясь, снижая иммунную реактивность организма, оказывая тератогенное действие (Майлян, 2013). Особую опасность цитомегаловирус (ЦМВ) представляет для детей и беременных женщин, т. к. возможна передача возбудителя плоду или новорожденным, что может приводить к патологии плода в неонатальном периоде. Поэтому необходимо более пристальное изучение частоты встречаемости антительных маркеров ЦМВИ для ранней диагностики данного заболевания.

Целью нашей работы явилось изучение распространенности антител классов М и G к ЦМВ среди пациентов ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора за первое полугодие 2014 года и установление частоты встречаемости антител к ЦМВ в различных возрастных категориях.

Материалы и методы. В целях изучения распространенности антител к ЦМВ было проведено исследование сывороток крови 1389 человек методом ИФА на наличие специфических иммуноглобулинов классов М и G к цитомегаловирусу в период с января по июнь 2014 года. Обследовали пациентов ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора, обратившихся в клинику с целью дифференциальной диагностики с различной клинической симптоматикой (лихорадка, артралгия, астенический синдром, синдром печеночно-клеточной недостаточности, гипертензионный синдром, аллергический синдром). Обследованные пациенты – взрослые и дети, проживающие в г. Тюмени и Тюменской области, были разбиты на 7 возрастных категорий. Среди 517 несовершеннолетних детей выделены 4 группы: 1) 2010-2014 гг. (0–4 года) – 156 человек, 2) 2007-2009 гг. (5–7 лет) – 137 человек, 3) 2002–2006 гг. (8–12 лет) – 140 человек, 4) 1996–2001 гг.

(13–18 лет) – 84 человека. Среди 872 взрослых людей было выделено 3 группы: 5) 1984–1995 гг. (19–30 лет) – 257 человек, 6) 1969–1983 гг. (31–45 лет) – 292 человека, 7) 1968 г. и более (46 лет и более) – 323 человека. Среди всех обследованных – 539 мужчин и 850 женщин. Исследование проводили при помощи иммуноферментного анализа с использованием диагностических тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск). Достоверность выявленных различий в частоте регистрации антител к ЦМВ оценивали с помощью критерия Хи-квадрат (χ^2).

В результате проведенных исследований показано, что распространенность антител класса IgG к ЦМВ как среди детского, так и среди взрослого населения составляет более 50%. Положительный результат анализа на наличие IgG-антител среди взрослого населения достигает $93,9 \pm 0,8\%$. Процент анти-IgG-ЦМВ позитивных результатов среди детского населения в полтора раза ниже и составляет $65,8 \pm 2,1\%$. Среди 539 мужчин 420 ($78,0 \pm 1,8\%$) имеют антитела класса G, в то время как из 850 женщин IgG-антителами к ЦМВ обладают 739, что составляет $87 \pm 1,2\%$. Таким образом, в выборках мужчин и женщин анти-IgG-позитивность к ЦМВ незначительно отличается.

В первой возрастной категории процент сероположительности по IgG к ЦМВ составил $64,7 \pm 3,8\%$, что незначительно выше, чем во второй группе – $56,2 \pm 4,3\%$. С увеличением возраста замечен существенный рост наличия данных антител в крови, а у людей в возрасте от 46 лет и более достигает почти 100% ($99,4 \pm 0,4\%$). При сравнении различных возрастных групп выявлены следующие достоверные различия по частоте встречаемости антител IgG к ЦМВ, при этом максимальные значения в группе 7 достоверно выше, чем во всех группах, а именно: в группе 1 ($p < 0,001$, $\chi^2 = 120,4$), в группе 2 ($p < 0,001$, $\chi^2 = 153,8$), в группе 3 ($p < 0,001$, $\chi^2 = 92,5$), в группе 4 ($p < 0,001$, $\chi^2 = 78,5$), в группе 5 ($p < 0,001$, $\chi^2 = 43,4$), в группе 6 ($p < 0,005$, $\chi^2 = 10,6$). Процент лиц, имеющих антитела IgG к ЦМВ, достоверно возрастает, начиная с группы детей 5–7 лет ($71,4 \pm 3,8\%$, ($p < 0,01$, $\chi^2 = 6,957$)), до контингента лиц 13–18 лет ($73,8 \pm 4,8\%$,) и более старших возрастных групп ($85,6 \pm 2,2\%$ и более).

Анализ влияния места проживания на наличие цитомегаловирусной инфекции у обследованных пациентов показал, что из 995 человек, зарегистрированных в городе Тюмени, 829 человек имеют антитела-IgG, что составляет $83,3 \pm 1,2\%$. Среди приезжего и пригородного населения (394 человека) $83,8 \pm 1,9\%$ также положительны в отношении наличия иммуноглобулинов класса G к ЦМВ. Достоверных различий по влиянию места жительства на наличие антител класса Ig G к ЦМВ не обнаружено ($\chi^2 = 1,7 < 3,84$).

Если положительный ответ на наличие специфических к цитомегаловирусу антител класса IgG служит признаком инфицированности (исключения составляют новорожденные и дети грудного

возраста с материнскими антителами), то позитивный тест на низкоавидные антитела, а также на антитела класса IgM или IgA уже свидетельствует об активном инфекционном процессе (Майлян, 2013). В ходе исследования удалось установить, что позитивные результаты анализа на антитела-IgM к ЦМВ регистрировались у 109 человек ($7,8 \pm 0,7\%$). Среди них выявлено 12 пациентов, не имеющих в сыворотке крови иммуноглобулинов класса G к ЦМВ, в основном это детское население в возрасте от 2 до 10 лет.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлены достоверные различия в частоте встречаемости антител классов IgM и IgG к ЦМВ среди обследованных возрастных групп пациентов. Только у детей до 10 лет выявлены антитела класса IgM при отсутствии антител класса IgG. С возрастом обследованных увеличивается частота обнаружения антител класса IgG, достигая 100 % в возрастной группе старше 40 лет.

УДК: 616.981.452-092.9:615.33:616-018:612(018)6

**Егиазарян Л. А., Тришина А. В.,
Веркина Л. М., Щипелева И. А.**

ЦИПРОФЛОКСАЦИН И МОКСИФЛОКСАЦИН В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИОННО-ТОКСИЧЕСКОЙ ЧУМЫ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ВЫЗВАННОЙ FI⁺ И FI⁻ ВАРИАНТАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ

*ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ростов-на Дону*

Обеспечение противодействия биологическим угрозам природного, техногенного или биотеррористического характера является актуальным. В число наиболее опасных патогенов входит чумной микроб. При наличии высокоэффективных средств этиотропной терапии среднестатистическая смертность от чумы не снижается (10–15 %) и при этом начало вспышек характеризуется 100%-ной летальностью. Известно, что антибактериальная терапия при сепсисе может осложняться выбросом токсических продуктов из разрушенных бактерий, усиливающих интоксикацию макроорганизма.

Цель работы – оценить эффективность ципрофлоксацина и моксифлоксацина на стадии клинически выраженного течения инфекции путём использования доз препаратов, эквивалентных среднесуточным (максимальным) человекодозам.

В экспериментах использовали высоковирулентные изогенные штаммы чумного микроба 231 FI⁺ и 231 FI⁻. Для прогнозирования клинической

эффективности антибактериальной терапии были использованы две модели экспериментальной чумы: традиционная (подкожное инфицирование белых мышей суспензиями бактерий в изотоническом растворе хлорида натрия) и инфекционно-токсическая (подкожное заражение животных бактериями *Yersinia pestis* после их преинкубации в гемолизате эритроцитов человека). Инфицирующая доза составляла 10^4 м.к., что соответствовало ~ 1000 ЛД₅₀. Использовали ципрофлоксацин (цифран, RANBAXY, Индия) и моксифлоксацин (авелокс, Bayer, Германия). Значения ЕД₅₀ антибактериальных препаратов определяли модифицированным методом Кербера (И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев, 1962) при использовании четырех доз (не менее 6 мышей на дозу), соответствующих среднесуточным и максимальным человекодозам. Лечебную эффективность (через 24 ч после заражения, курс 7 сут.) препаратов изучали в опытах на инфицированных мышях – не менее 20 на лечебную дозу. Статистическую обработку результатов проводили по таблицам А. Я. Боярского. В качестве дополнительного контроля санации макроорганизма от инфекта использовали внутрибрюшинное введение выжившим животным суспензии гидрокортизона (5 мг/мышь). Срок наблюдения – 14 сут.

В результате проведенных экспериментов показана высокая лечебная эффективность (100 % выживших животных) ципрофлоксацина в дозах (1,0 – 4,0 мг/мышь/сут.), эквивалентных среднесуточным и максимальным человекодозам, при экспериментальной чуме, обусловленной *Y. pestis* 231 FI⁺ как без активации, так и с активированными токсическими субстанциями. Значения ЕД₅₀ составили 0,5 мг/мышь (без активации) и 0,56 мг/мышь (с активированными токсическими субстанциями чумного микроба). Достаточно высокую эффективность регистрировали (83–100% выживших) при использовании ципрофлоксацина в лечении экспериментальной чумы белых мышей, инфицированных *Y. pestis* 231 FI⁻ (без активации и с активацией). Значения ЕД₅₀ составили 0,45 и 0,5 мг/мышь, соответственно. На заключительном этапе изучения эффективности ципрофлоксацина использовали две дозы препарата (2,0 – 4,0 мг/мышь/сут.) в лечении (курс 7 сут.) беспородных белых мышей, подкожно инфицированных ~ 1000 ЛД₅₀ *Y. pestis* 231 FI⁺ и 231 FI⁻ на двух моделях инфекции. Опыты ставили одновременно на одном поголовье животных. Независимо от фенотипа инфицирующего штамма возбудителя чумы и модели инфекции при лечении ципрофлоксацином через 24 ч после заражения при курсе 7 сут. выживало 95–100% животных. При лечебном применении моксифлоксацина значения ЕД₅₀ препарата при инфекции, вызванной возбудителем с FI⁺ фенотипом, составляли 0,11 мг/мышь (без активации) и 0,56 мг/мышь (с активированными токсическими субстанциями чумного микроба) и не имели статистически значимых отличий при

инфекции, вызванной *Y. pestis* 231 FI. Лечение мышей, подкожно инфицированных ~ 1000 ЛД₅₀ *Y. pestis* 231 FI⁺ и 231 FI⁻ на двух моделях инфекции, моксифлоксацином в дозе 1,5 мг/мышь/сут. (курс 7 сут.) давало 95–100%-ную терапевтическую эффективность. Контрольное введение выжившим мышам гидрокортизона не вызывало гибели мышшей. Культуру возбудителя выделено не было.

Таким образом, в наших экспериментах показано, что ципрофлоксацин (фторхинолон II поколения) и моксифлоксацин (фторхинолон IV поколения с пролонгированным характером действия) перспективны для расширения арсенала средств этиотропной терапии чумы на этапе инфекционно-токсического шока. Наличие форм для парентерального и орального применения позволяет использовать препараты для ступенчатой терапии, которая в настоящее время считается наиболее эффективной и экономичной при этиотропной терапии инфекций различной этиологии.

УДК 577.2

**Князев Д. И., Солнцев Л. А.,
Старикова В. Д., Сахарнов Н. А.,
Уткин О. В.**

**БИОЧИП ДЛЯ ОЦЕНКИ
ЭКСПРЕССИИ
СПЛАЙСИРОВАННЫХ
ВАРИАНТОВ мРНК
РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННОГО
СИГНАЛИНГА АПОПТОЗА**

*ФБУН ННИИЭМ
им. академика И. Н. Блохиной
Роспотребнадзора,
Нижний Новгород*

Апоптоз – фундаментальный биологический процесс, участвующий в поддержании клеточного гомеостаза и функционирования иммунной системы. Нарушения регуляции апоптоза лежат в основе целого ряда иммуноопосредованных заболеваний человека.

В инициации «внешнего» пути апоптоза принимают участие представители группы белковых молекул, называемых «рецепторами смерти». У человека идентифицировано 6 «рецепторов смерти»: Fas, TNFR-1, DR3, DR4, DR5, DR6. Они характеризуются разными паттернами экспрессии, в зависимости от типа клеток и их функционального состояния, в том числе и иммунокомпетентных клеток.

Стимуляция «рецепторов смерти» сопровождается изменением состава и уровня представленности про- и анти-апоптотических факторов, составляющих основу сигнального каскада. Динамическая альтерация структуры сигнального

каскада определяет тонкий баланс в системе пролиферация/апоптоз и имеет функциональное значение как в норме, так и при заболеваниях разного генеза.

Представители семейства *Herpesviridae* являются одной из причин развития вторичных иммунодефицитов человека. Они используют разнообразные стратегии ухода из-под иммунологического контроля, участвуя в модуляции сигнальных событий апоптоза инфицированных клеток. В связи с этим анализ экспрессии «рецепторов смерти», а также ассоциированных с ними сигнальных молекул в составе различных субпопуляций Т-лимфоцитов является актуальным в фундаментальном и клиническом аспектах.

Важной характеристикой основных участников рецептор-опосредованного сигналинга является наличие широкого спектра форм, образующихся в результате альтернативного сплайсинга и выполняющих разные функции. Совокупность сплайсированных вариантов, имеющих структурно-функциональные различия, а также их количественное соотношение играют важную роль в процессах кооперации иммунокомпетентных клеток и реализации адекватного иммунного ответа.

Целью работы явился мультиплексный анализ экспрессии сплайсированных вариантов мРНК «рецепторов смерти» и ассоциированных с ними элементов внутриклеточного сигналинга в составе наивных и эффекторных субпопуляций CD8⁺ и CD4⁺ Т-лимфоцитов человека при различных нозологических формах ГВИ.

С учетом необходимости отдельной детекции большого числа варьирующих копий мРНК, их количественной характеристики основным методом, используемым в работе, является технология биологических ДНК-микрочипов. Она базируется на фосфорамитидном синтезе ДНК-зондов с последующей электрохимической детекцией результатов с помощью комплекса оборудования (B3 SynthesizerCustomArray, США). Определенная локализация зондов на биочипе достигалась с помощью программного обеспечения Combi Matrix Layout Designer Software.

Для решения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- 1) с помощью подходов биоинформатики разработать алгоритм селекции зондов, синтезируемых на биочипе;
 - 2) сформировать дизайн ДНК-микрочипа.
- В рамках исследования транскриптома основных участников рецептор-опосредованного сигналинга апоптоза были выделены следующие группы молекул, кандидатных для включения в состав биочипа:
- 1) Лиганды рецепторов смерти: TNF- α , FAS-L, TL1A, TRAIL, APP;
 - 2) «Рецепторы смерти»: TNF-R1, Fas, DR3, DR4, DR5, DR6;
 - 3) Адапторы, взаимодействующие с «рецепто-

рами смерти»: FADD, TRADD, TRAF1/2, RIP-1, RAIDD, PIDD, FAN;

4) Ловушки рецепторов смерти и их лигандов: DcR1, DcR2, DcR3, OPG; OPG

5) Проксимальные каспазы (1,2,8, 10, 11, 12) и их ингибиторы (сFLIP и др.);

6) Дистальные каспазы (3,6,7) и их ингибиторы: XIAP, NAIP, survivin, cIAP-1,2;

7) Адапторы и эффекторы, участвующие в интеграции модуляции рецептор-опосредованного и митохондриального путей апоптоза (CytC, Apaf-1, каспаза 9, Smac/Diablo, HtrA2, EndoG, Mcl-1, AIF, Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, Bak, Bax, Bad, Bid, Bim, Noxa, Puma, BNIP1, BNIP3, BNIP3L, Bmf, Beclin-1, SHARPIN, HOIL-1, HOIP);

8) Киназы: SAPK, JNK, MAPK3, MAPK1, изоформы PRKC (α , β , δ , ϵ , θ , ζ , ι), изоформы PI3K (PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PIK3CG, PIK3R5, PIK3R6), FAK, Src, ASK1, Akt1, Akt2, Akt3, изоформы IKK (IKK α , IKK β , IKK γ), NIK (MAP3K14, MAP4K4), DAPK1, DAPK2, DAPK3.

9) Трансфакторы, активируемые JNK: JunD, AT2, ATF3, Elk 1, Elk-3, RXR α , AR, NFAT4, HSF-1, c-Myс.

10) Маркеры пролиферирующих клеток: Ki-67, PCNA.

11) Транскрипционные факторы, активирующиеся в ходе стимуляции рецепторов смерти: NF κ B1, NF κ B2, c-Fos, FosB, JunB и c-Jun, изоформы ингибитора NF κ B-I κ B (α , β , δ , ϵ , ζ)

12) Компоненты сплайсосомы: U5 (SNRNP40, SNRNP200), КН-белки (ASCC1, HNRPK, KHDRBS2, KHDRBS3, KHSRP, PCBP4, SF1), CUGBP-белки (CUGBP1-6), RGG (hnRNP), FMRP, SYNCRIP, CIRBP, aven, nucleolin, caprin-1, Aly/Ref, SRPK1, SmB, SmD1, SmD3);

13) Факторы регуляции альтернативного сплайсинга: SR-белки (ASF/SF2, SC35, SFRS3, SRp30c, SFRS4, SFRS5, SFRS6, SFRS7, SFRS11), TIA1, TIAR, FASTK, PTBP1, PTBP2, PTBP3, SPF45, HuR, RBM5, RBM25, SAP155, Sam68, hnRNP A1, hnRNP E, hnRNP H1, hnRNP H2, hnRNP H3;

14) Референтные гены, обладающие разноразмерной стабильной экспрессией (FPGS, TRAP1, DECR1, PGK1, PPIB), используемые для нормализации количественных показателей.

Разработан алгоритм селекции зондов в системе Matlab (Mathworks, США) с пакетом расширений Bioinformatics Toolbox и Parallel Computing Toolbox. Исходные требования к зондам включали:

1) зонд находится на стыках экзонов, что позволяет выявлять только мРНК;

2) длина зонда от 24 до 40 н.о.;

3) температура плавления 63–68 °С;

4) содержание GC от 48 до 84 %;

5) количество гомоповторов н.о. не более пяти;

6) зонд не должен образовывать шпильки с ΔG ниже 6 кДж/моль;

7) олигонуклеотидный зонд не должен полностью встречаться в соответствующем гене; процент сходства был установлен на отметке 67 % (т. е. для зонда длиной 24 н.о. допускалось нахождение в хромосоме части этого зонда длиной не более 18 н.о.);

8) зонд должен быть уникальным, т. е. детектировать только определенную форму мРНК.

В идеальном случае к каждой сплайсированной форме мРНК подбирались уникальные зонды. Однако высокая степень сходства сплайсированных вариантов мРНК одного гена (например, DR3) не позволила полностью решить поставленную задачу. Именно поэтому при поиске учитывались зонды, позволяющие детектировать более одной сплайсированной формы мРНК в пределах одного гена (группирующие зонды). Такой комплексный подход с использованием уникальных и группирующих зондов дает возможность детектировать большее число сплайсированных вариантов мРНК в соответствии с заданными критериями селекции.

Проверка зондов на уникальность проводилась с использованием локальной версии BLAST 2.2.29+. В качестве базы данных была использована база данных mRNA_PROT (ftp://ftp.ncbi.nih.gov/refseq/H_sapiens/mRNA_Proc). Зонд считался пригодным в случае сходства только с целевой мРНК.

В ходе настоящего исследования проведен анализ 185 генов. Общее число кандидатов в зонды составило 65374567. Разработанный нами алгоритм позволил провести полный цикл селекции зондов за 24 часа. Кроме того, потенциально возможное увеличение числа кандидатов ведет лишь к минимальному увеличению времени работы алгоритма (на 1,5–2 часа). Выбранные уникальные и группирующие зонды позволяют детектировать 350 и 775 сплайсированных вариантов мРНК соответственно. При этом число уникальных и группирующих зондов варьировало в зависимости от нуклеотидной последовательности исследуемых мРНК. В результате для синтеза на биочипе отобрано по 2016 прямых и обратнo-комплементарных зондов, детектирующих 1134 сплайсированных вариантов мРНК. Использование в работе обратнo-комплементарных зондов связано с особенностью пробоподготовки, включающей этап амплификации мРНК с образованием пула молекул ДНК, последовательность которых обратнo-комплементарна исходным мРНК.

По итогам работы сгенерированы 2 набора зондов, условно названных «Antisense» и «Sense». В этой связи разработка дизайна велась в отношении двух разновидностей биочипов – I и II. Биочипы I и II включают 4 пространственно разобъединенных блока, каждый из которых содержит 2016 зондов в ориентации «Antisense» и «Sense» соответственно. Каждый из сконструированных биочипов позволяет вести анализ апоптоз-ассоциированного транскриптома четырех экспериментальных образцов. В

настоящее время ведутся работы по оптимизации условий пробоподготовки (разработка методик, позволяющих работать с минимальным объемом биоматериала) и сокращению финансовых затрат, а также – селекции зондов, обладающих наибольшей чувствительностью и дискриминирующей способностью.

УДК 579.254

Князева А. И.¹, Асташкин Е. И.¹,
Карцев Н. Н.¹, Ершова О. Н.², Светоч Э. А.¹,
Фурсова Н. К.¹

**ХАРАКТЕРИСТИКА
НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ
KLEBSIELLA PNEUMONIAE,
ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВОЙ
КОНЪЮГАТИВНЫЙ ПЕРЕНОС
ПЛАЗМИД, НЕСУЩИХ
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ**

¹Государственный научный центр
прикладной микробиологии
и биотехнологии,
Оболенск

²НИИ нейрохирургии им. Бурденко,
Москва

Введение. *Klebsiella pneumoniae* – бактерии, способные вызывать различные заболевания у людей и животных (бактериемии, поражения респираторного тракта, инфекции мочевыводящих путей, инфекции центральной нервной системы, поражения кожи, эндогенные эндофтальмиты, абсцессы печени и др.). До 1980-х годов данный патоген, классические *K. pneumoniae* (сКр), имел значение преимущественно в госпитальных условиях, где вызывал, главным образом, заболевания мочевыводящих путей, дыхательной системы и сепсис (Brisse et al., 2006; Keunpan et al., 2007; Podschun et al., 1998). Характеристикой современных штаммов клебсиелл является наличие множественной (MDR), экстремальной (XDR) или пан-резистентной (PDR) устойчивости к антибактериальным препаратам, благодаря приобретению ими генов бета-лактамаз расширенного спектра действия, кабапенемаз, интегронов и других детерминант резистентности (Shon et al., 2012; Su et al., 2008). Параллельно наблюдается эволюция клебсиелл в сторону накопления ими факторов вирулентности. В последние годы появились гипервирулентные штаммы *K. pneumoniae* (hvKp), на которые исследователи обратили внимание в связи с их способностью вызывать характерный синдром гнойного абсцесса печени с последующим метастазированием в различные ткани и органы (осложнения в виде эндофтальмитов, менингитов и др.)

(Siu et al., 2012; Yoon et al., 2014). Первые случаи подобной инфекции были описаны в Азиатско-Тихоокеанском регионе, в последние годы – и в других регионах мира (Svend et al., 2014). Вклад гипервирулентных клебсиелл в заболеваемость клебсиеллезами в Российской Федерации неизвестен, поэтому характеристика штаммов, выделяемых в условиях стационаров, по наличию у них детерминант резистентности и вирулентности представляет несомненный интерес с точки зрения эпидемиологии патогена.

Целью данной работы является фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов коллекции клебсиелл, выделенных в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) от больных, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), в 2012-2014 гг.; определение наличия у них детерминант резистентности и вирулентности; локализация генов лекарственной устойчивости на плазмидах; моделирование *in vitro* межвидового и внутривидового процессов передачи данных плазмид.

Материалы и методы. *Штаммы микроорганизмов.* В работе использовали штаммы *K. pneumoniae* (n=58), выделенные из нейрохирургического ОРИТ г. Москвы; штамм *K. pneumoniae* М-9, выделенный из окружающей среды (вода) в Краснодарском крае в 2011 г.; лабораторный штамм *Escherichia coli* HB101Rif^R, полученный из рабочей коллекции лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН ГНЦ ПМБ.

Видовая идентификация. Видовую идентификацию бактерий осуществляли на приборах VITEC-2 (Biomerieux, Франция) и MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonics, Германия).

Культивирование микроорганизмов и изучение культурально-морфологических свойств изучаемых штаммов клебсиелл осуществляли на плотных и жидких питательных средах: ГРМ-агар (Оболенск, Россия), агар LB, бульон LB, среда Эндо, агар и бульон Мюллера-Хинтона (Himedia, Индия) – при температуре 37 °С.

Чувствительность к антибактериальным препаратам: амоксициллину/клавулановой кислоте (АМС); амоксициллину-сульбактаму (АМС); цефуроксиму (СЕФ); цефокситину (СЕХ); цефтаксиму (СТХ); цефтриаксону (СТА); цефтазидиму (САЗ); цефоперазону (СРЗ) цефоперазон-сульбактаму (СРС); цефепиму (СЕР); эртапенему (ЕРМ); азтреонаму (АЗР); имипенему (ИМИ); меропенему (МЕР); доксициклину (ДОС); тигециклину (ТГС); ципрофлоксацину (СР); тетрациклину (ТЕТ); хлорамфениколу (СМ); гентамицину (ГЕН); тобрамицину (ТОВ); амикацину (АМИ); котримоксазолу (СТЗ); триметоприму (ТНР); нитрофурантоину (НИТ), колистину (СОЛ) – определяли в соответствии с рекомендациями МУК 4.2.1890-04. Интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями EUCAST (2013).

Детекцию генов резистентности bla_{TEM} , bla_{SHV} , $bla_{\text{CTX-M}}$, $bla_{\text{OXA-48}}$ -типа, интегронов классов 1 и 2, поринов *ompK36*, а также вирулентности на гены *rmpA*, *aer*, *uge2*, *wabG*, *kfu*, *fimH*, *allS* осуществляли с помощью ПЦР со специфичными праймерами (Poirel et al., 2011; Прямчук и др., 2011; Ma et al., 2005; Vila et al., 2011).

Генотипирование штаммов осуществляли с помощью метода RAPD-PCR со «случайными» праймерами 1247 и ОРА11.

Конъюгация. Донорные штаммы: *K. pneumoniae* В-500, выделенный из эндотрахеального аспирата в 2013 г., и *K. pneumoniae* В-757К, выделенный из мочи в 2013 г.; реципиентные штаммы: *K. pneumoniae* М-9 и *E. coli* НВ101Rif^R. Скрещивание проводили по стандартной методике (molbiol.ru). Эффективность конъюгации рассчитывали как отношение колониеобразующих единиц (КОЕ) трансконъюгантов к КОЕ реципиента. Трансконъюганты характеризовали по фенотипу резистентности к антибактериальным препаратам, по наличию генетических маркеров резистентности bla_{TEM} , bla_{SHV} , $bla_{\text{CTX-M}}$, $bla_{\text{OXA-48}}$ -типа, *ompK36*, *intl1* и вирулентности *rmpA*, *aer*, *uge2*, *wabG*, *kfu*, *fimH*, *allS*, а также по RAPD-генотипу.

Результаты. *Klebsiella pneumoniae* - второй по значимости (после *Acinetobacter baumannii*) возбудитель вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП) у пациентов нейрохирургического ОРИТ г. Москвы в 2012 г. (19 %) и 2013 г. (14 %). Изучаемые клинические изоляты *K. pneumoniae* (n=58) выделены из: мочи (n=25), дыхательной системы (n=24), нервной системы (n=6), с кожных покровов (n=2) и крови (n=1). Из культурально-морфологических свойств данных изолятов отмечено, что на плотных питательных средах ГРМ-агаре и агаре Мюллера-Хинтона они образуют крупные блестящие куполообразные слизистые S-колонии молочного цвета, на среде Эндо – колонии имеют темно-бордовый цвет с влажным блеском.

Установлено, что данные изоляты обладали высоким уровнем и спектром устойчивости к антибактериальным препаратам разных функциональных классов: к АМС, АМС, СЕФ, СТХ, СТА, САЗ и НИТ устойчивы 90–100% изолятов, к СЕХ, СРС, ФЕР, СР, СМ, ТОВ и ТНР/СТЗ – 70–89 %; к ИМІ, МЕР, ТЕТ и GEN – 30–69 %; а к ТГС и АМІ – 10–29 %. Большинство изолятов относится к экстремально-резистентным патогенам, так как сохраняют чувствительность к антибактериальным препаратам не более чем двух функциональных классов (СОЛ и ТГС). Показано, что устойчивость к бета-лактамам коррелирует с присутствием в геномах изолятов генов бета-лактамаз: СТХ-М-типа (87,7 %), SHV-типа (76,8 %), TEM-типа (71,2 % изолятов), и OXA-48-типа (66,1 %). Примечательно, что гены бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) СТХ-М-типа представлены эпидемически значимой аллелью $bla_{\text{CTX-M-15}}$ (GenBank KM085432, KM058752,

KM058751, KM058748, KJ469366, KJ469365, KJ363321, KJ363319, KJ187477, KJ187476, KC822919, KC822918, KC817481, KC817480), а гены карбапенемаз OXA-48-типа представлены двумя аллелями: $bla_{\text{OXA-48}}$ (GenBank KM085437, KJ481798, KJ481797) и $bla_{\text{OXA-244}}$ (GenBank KM058746, KJ481799, KJ481795). Устойчивость к антибактериальным препаратам других функциональных классов (аминогликозидам, хинолонам, сульфаниламидам и др.) определяется наличием интегронов класса 1 (74 % изолятов), несущих генные кассеты *dfrA1-orfC* (GenBank KF971879), *dfrA12-orfF-aadA2* (GenBank KJ187477) и *dfrA17-aadA5* (GenBank KM009102). Примечательно, что часть идентифицированных интегронов не содержит кассет резистентности в своих варибельных регионах, что может рассматриваться как резерв для будущего накопления детерминант устойчивости.

ПЦР-детекция генов пориновых белков *ompK36* показала, что данные структуры являются высокоспецифичными для *K. pneumoniae* (90,2 % изолятов) (GenBank KJ579292, KJ579289), однако также идентифицирован другой вариант гена порина – *ompC* (GenBank KJ579291, KJ579290, KJ469369), что указывает на вовлеченность механизмов модификации поринов в формирование устойчивости к антимикробным препаратам.

Для локализации генов антибиотикоустойчивости на конъюгативных плаزمидах осуществлена передача маркеров резистентности к цефалоспорином и карбапенемам с помощью внутривидовой конъюгации между донорными штаммами *K. pneumoniae* В-500 (RAPD-генотип КА, сиквенс-тип ST218, bla_{TEM} , bla_{SHV} , $bla_{\text{CTX-M}}$, $bla_{\text{OXA-244}}$, *ompK36*, *intl1*) и *K. pneumoniae* В-757К (RAPD-генотип KB, bla_{TEM} , bla_{SHV} , $bla_{\text{CTX-M}}$, $bla_{\text{OXA-244}}$, *ompK36*, *intl1*) и реципиентным штаммом *K. pneumoniae* М-9 (RAPD-генотип KC, сиквенс-тип ST1544, bla_{SHV} , *ompK36*) с эффективностью $0,2 \times 10^{-5}$ и $0,85 \times 10^{-5}$ соответственно, а также с помощью межвидовой конъюгации тех же донорных штаммов и лабораторного реципиента *E. coli* НВ101Rif^R с эффективностью $0,2 \times 10^{-4}$ и $0,3 \times 10^{-4}$ соответственно.

Показано, что у трансконъюгантов, полученных как при внутривидовой, так и при межвидовой передаче плазмид, RAPD-генотипы генетически близки к таковым реципиентов и генетически значительно отличаются от RAPD-генотипов доноров.

Анализ передачи генетических детерминант антибиотикорезистентности в трансконъюганты из двух доноров позволил сделать вывод о локализации генов bla_{TEM} , $bla_{\text{CTX-M}}$, *intl1* на одном плазмидном репликоне, а гена $bla_{\text{OXA-244}}$ – на другом плазмидном репликоне (IncL/M). При межвидовом конъюгативном скрещивании произошла передача в клетки *E. coli* только генетического маркера $bla_{\text{OXA-244}}$ на репликоне IncL/M. Факт передачи генетических маркеров при внутри- и межвидовом скрещиваниях подтвержден фенотипически наличием устойчивости к СТХ, ФЕР и ТНР/СТЗ

у трансконъюгантов. В трансконъюгантах *E. coli* гены вирулентности клебсиелл не обнаружены.

Выводы. Охарактеризованные в данном исследовании штаммы возбудителей нозокомиальных клебсиеллезов, выделенных в нейрохирургическом ОРИТ г. Москвы в 2012–2014 гг., могут быть отнесены к категории экстремально-резистентных патогенов, поскольку сохраняют чувствительность преимущественно только к двум функциональным классам антибактериальных препаратов – коли-стину и тигециклину.

Показано, что молекулярным механизмом формирования множественной лекарственной устойчивости в данных штаммах является наличие генетических детерминант bla_{TEM} , bla_{SHV} , bla_{CTX-M} , bla_{OXA-48} -типа интегронов класса 1, а также поринов OmpK36-типа.

На основании экспериментов по внутри- и межвидовой передаче плазмид нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae* установлено, что генетические маркеры устойчивости к современным бета-лактамам локализованы на двух плазмидных репликаонах: несущем гены bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , *int11* и содержащем ген карбапенемазы $bla_{OXA-244}$.

Работа выполнена в рамках Федеральных НИР 037 ФБУН ГНЦ ПМБ «Совершенствование методов идентификации и изучение биологических, молекулярно-генетических, биохимических характеристик возбудителей клостридиозов, легионеллеза и листериоза и др. бактериальных пищевых инфекций, в том числе культур с атипичными свойствами» и 039 «Совершенствование генодиагностики и генотипирования возбудителей бактериальных инфекций». Секвенирование ДНК осуществляли в ООО «СИНТОЛ» (Москва). Природный изолят *K. pneumoniae* М-9 получен от Мокриевича А. Н. и Шишковой Н. А. (отдел особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ПМБ). Мы признательны Пачкунову Д. М. (Йошкар-Олинский технический университет) за методическую помощь.

УДК 612.015:616.081.455:577.15

Козлов С. Н., Корнева А. В.,
Соловьёв С. Ю., Николаев В. Б.,
Марков Е. Ю., Мазепа А. В.

ОБНАРУЖЕНИЕ ПРОТЕАЗНОЙ И ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ *FRANCISELLA TULARENSIS* РАЗНЫХ ПОДВИДОВ

ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Несмотря на успехи в изучении *Francisella tularensis*, факторы, обеспечивающие высокую степень патогенности у разных подвидов туляремийного микроба, остаются до конца неизвестными. Гидролитические ферменты, присутствующие как в цитоплазме, так и в составе поверхностных структур бактериальной клетки, не только участвуют в метаболизме, но и являются факторами вирулентности у многих патогенных микроорганизмов. Сведения об участии ферментативного аппарата туляремийного микроба в проявлении его вирулентных свойств не составляют целостной картины и требуют дальнейших исследований.

Целью данной работы являлось обнаружение протеазной и липолитической активности в препаратах субклеточных фракций *F. tularensis* разных подвидов.

Работу проводили в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)». Использовали шесть штаммов туляремийного микроба разных подвидов: *F. tularensis* subsp. *tularensis* В-399 А-Cole, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* А-61, *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306, *F. tularensis* subsp. *holarctica* 21/400 (авирулентный), *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ, полученных из музея живых культур ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Бактериальную массу выращивали в течение 48 ч при 37°C на FT-агаре, смывали физиологическим раствором и готовили микробную взвесь в концентрации 20¹⁰ м.к./мл (по ОСО мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича). В микробную взвесь добавляли при постоянном перемешивании 9 М раствор мочевины до следующих конечных концентраций: 0,14; 0,28; 0,5625; 1,125; 2,25 и 4,5 М и выдерживали суспензию в термостате при температуре 37°C в течение суток. Дальнейшие манипуляции с мочевиным лизатом проводили после получения отрицательного бактериологического контроля стерильности.

Бактериальный лизат подвергали центрифуге-

гированию при 10 000 g в течение 30 мин (4 °C) для удаления неразрушенных микробных клеток и крупных фрагментов. Далее супернатант центрифугировали 60 мин при 40 000 g (4 °C). Полученный осадок (наружные мембраны) отмывали повторным центрифугированием в дистиллированной воде, а супернатант (мочевинный экстракт) диализовали против проточной и дистиллированной воды в течение 3-х суток. Полученные препараты лиофильно высушивали.

Определение гидролазной активности в препаратах проводили с помощью диффузионного теста в 1 % агарозном геле, содержащем в качестве субстрата: для определения протеазной активности – 0,5 % раствор желатина или 1 % казеина; для определения липолитической активности – 0,5 % раствор неионного детергента Твин-20. Исследуемый материал суспендировали в 0,05 М Трис-НСI буфере рН 8,3. В качестве положительного контроля при определении протеазной активности использовали раствор трипсина, при определении липолитической активности – раствор липазы поджелудочной железы свиньи, а в качестве отрицательного контроля буфер для образцов. Чашки инкубировали во влажной камере при 37 °C в течение 12–48 ч.

Учет результатов проводили визуально, активность ферментов оценивали с помощью измерения ширины зон гидролиза после учета положительно и отрицательного контролей.

Значительное неблагоприятное воздействие стандартных способов инактивации микробных клеток (кипячение, обработка формалином или фенолом) на биологические свойства получаемых препаратов делает оценку ферментативной активности в них малопродуктивной или вовсе невозможной. С точки зрения сохранения биологических свойств белковых молекул, перспективным оказался способ получения препаратов субклеточных фракций туляремийного микроба путем прогревания бактериальной массы при 37 °C в присутствии мочевины в конечной концентрации 4,5 М. Установлено, что обработка раствором мочевины живых туляремийных микробов позволяет получать стерильные лизаты для выделения субклеточных фракций с сохранением их биологических свойств, пригодных для дальнейших энзимологических исследований.

После дифференциального центрифугирования мочевинового лизата бактериальных клеток гидролазная активность обнаруживалась как в водорастворимых субклеточных фракциях, так и во фракциях наружных мембран. После прогревания субклеточных фракций при 97 °C в течение 10 мин ферментативная активность исчезала.

Используя метод обработки бактериальной массы туляремийного микроба мочевиной в конечной концентрации 4,5 М, можно получать препараты, содержащие активные ферменты, пригодные для их последующего изучения у штаммов *F.*

tularensis разной подвидовой принадлежности и вирулентности.

Первичный анализ ферментативной активности препаратов субклеточных фракций туляремийного микроба разных подвидов показал различия в интенсивности гидролитической активности в аналогичных фракциях. В этой связи изучение туляремийного микроба по данному признаку, возможно, позволит пополнить знания о представителях этого рода и возможном участии ферментов в реализации патогенного потенциала.

УДК 578(233.36)

Корнеев Д. В., Зайцев Б. Н.

АТОМНО-СИЛОВАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ОДИНОЧНЫХ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ

*ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
Новосибирская область, Кольцово*

В основе работы атомно-силового микроскопа (АСМ) лежит силовое взаимодействие между острым твердотельным зондом и поверхностью. Зонд закреплен на упругой консоли, обычно называемой кантилевером; сила, действующая на зонд со стороны поверхности, приводит к изгибу кантилевера. Регистрируя величину изгиба, можно контролировать силу взаимодействия зонда с поверхностью. Режим работы АСМ, в котором осуществляется измерение величины силы взаимодействия зонда и поверхности, называется атомно-силовой спектроскопией (АСС). Данный метод применяется для измерения силовых характеристик взаимодействия макромолекул, наночастиц, вирионов и даже целых бактериальных клеток с различными поверхностями.

Особый интерес представляет применение техники АСС для изучения взаимодействия вирусных частиц (вирионов) и поверхности живой клетки. Изучение механизмов проникновения вируса в клетку имеет не только большое фундаментальное значение, но и важно для прикладных областей, т. к. полученные данные могут указать путь к созданию эффективных противовирусных препаратов.

Для выполнения силовых измерений необходимо закрепить вирусную частицу на острие зонда АСМ. Типичная величина радиуса стандартного коммерческого зонда составляет ≈ 10 нм. Вирионы могут иметь размер от 25 нм до 1 мкм, в зависимости от вида вируса. В работе использовались: бактериофаг $\phi 6$ (60 нм), вирус гриппа А Н3N2 (90–110 нм) и вирус осповакцины ($\approx 350 \times 250 \times 150$ нм). Перед посадкой вирионов на острие АСМ-зонда формировали площадку подходящего размера методом длительного циклического сканирования

поверхности сапфира с большими значениями частоты и прижимной силы. Результаты модификации геометрических характеристик зонда контролировали методом просвечивающей электронной микроскопии, используя модифицированный держатель образца.

Для селективного притяжения вирионов в область острия АСМ-зонда использовали эффект положительного диэлектрофореза. Диэлектрофорезом называют движение диэлектрических частиц относительно электродов, возникающее в сильном неоднородном и переменном электрическом поле. Положительным диэлектрофорезом называют движение частиц по направлению к электродам, а отрицательным – движение от электродов. Знак диэлектрофореза определяется диэлектрическими свойствами частиц и частотой электрического поля. Для определения области частот поля, соответствующей положительному диэлектрофорезу для каждого вируса, вирионы флюорохромировали FITC по стандартному протоколу и проводили диэлектрофорез в 0,3 М растворе сахарозы на измерительных ячейках под люминесцентным микроскопом. Варьируя частоту, наблюдали за изменением распределения интенсивности свечения в окрестности острия зонда.

Использовали АСМ-зонды CSG01/Au производства NT-MDT (Россия). Данные зонды изготовлены из кремния и имеют проводящее покрытие, которое позволяет использовать их в качестве электродов.

Получены воспроизводимые результаты фиксации одиночных вирусных частиц на острие АСМ-зонда, подтвержденные методом электронной микроскопии.

УДК 616.9

**Костюченко М. В., Саркисян Н. С.,
Пономаренко Д. Г., Ракитина Е. Л.,
Логвиненко О. В.**

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ IN VITRO У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Полиморфизм клинических проявлений бруцеллеза на всех стадиях инфекционного процесса требует проведения лабораторных методов исследования.

Для лабораторной диагностики бруцеллеза у людей применяются три группы методов: первая – тесты, позволяющие выявить возбудитель заболевания и его растворимые антигены; вторая – мето-

ды определения специфических антител; третья – тесты, выявляющие сенсibilизацию организма к бруцеллезным антигенам. Серологические методы используют для диагностики всех форм заболевания, а также при эпидемиологическом обследовании населения и при отборе лиц для вакцинации против бруцеллеза.

При проведении обследования нужно учитывать, что, если высокие титры антител почти всегда указывают на наличие инфекции, то и антитела в низких титрах или их полное отсутствие не исключают возможности заболевания. Как дополнительные методы обследования при различных инфекционных заболеваниях используют антигенспецифические методы. Взаимодействие антигена с рецептором иммунокомпетентной клетки вызывает активацию лимфоцитов, которая состоит в развитии каскада реакций, завершающихся экспрессией различных генов и их рецепторов на поверхности клетки.

Для оценки активации лимфоцитов определяют внутриклеточные сигнальные молекулы, уровень провоспалительных цитокинов, выработку противовоспалительных цитокинов, а также экспрессию клетками маркеров активации. К маркерам активации относятся молекулы межклеточной адгезии, обеспечивающие более эффективное взаимодействие активированных клеток с другими, а также рецепторы факторов роста и дифференцировки, необходимые для постоянной пролиферации и созревания клеток. Антиген CD 25 – рецептор для ИЛ-2, экспрессируемый Т-клетками после активации (маркер ранней активации). Антиген HLA-DR является маркером не только поздней, но и длительной активации клеток. HLA-DR-позитивные лимфоциты длительно циркулируют в крови, а экспрессия этого маркера наиболее полно отражает активационное состояние клеток. Поэтому именно HLA-DR наиболее часто используется для определения наличия поздней клеточной активации, а в динамике позволяет оценить остроту воспалительного процесса и проводить мониторинг эффективности лечения.

Целью исследования явилось изучение у больных бруцеллезом активации бруцеллином лимфоцитов *in vitro*.

Материалы и методы. Было обследовано 20 человек, из них – 10 пациентов с установленным диагнозом «острый бруцеллез». Контролем служили 10 человек, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции.

Обследование больных проводили с помощью проточного цитометра FACSCalibur (США), используя моноклональные антитела (Beckman Coulter, США) к поверхностным антигенам клеток крови человека. Выявляли лимфоциты, экспрессирующие антигены CD25 и HLA-DR. Изучение относительного количества CD25⁺, HLA-DR⁺ клеток проводили непосредственно после забора крови. Затем в 50 мкл гепаринизированной крови добавляли 50 мкл бруцеллина жидкого производ-

ства ФГУП «НПО Микроген» (Россия). Пробы помещали в термостат при 37 °С, с экспозицией 24 часа, перемешивали и разливали по 50 мкл в две пробирки. Затем добавляли по 50 мкл моноклональных антител CD25, HLA-DR и оставляли при комнатной температуре на 20 минут. Вносили лизирующий раствор, центрифугировали, дважды отмывали раствором CellWASH. Результаты анализировали при помощи универсальной программы Cell Quest. Обеззараживание исследуемого материала от больных бруцеллезом людей осуществляли в соответствии с СП № 1.3.1285 – 03.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий между группами определяли по критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

При анализе полученных результатов установлено, что содержание лимфоцитов, экспрессирующих CD25-антигены до стимуляции бруцеллином, составляло у пациентов $5,58 \pm 0,66$ %. В контрольной группе этот показатель был $6,23 \pm 0,34$ %. После стимуляции специфическим антигеном содержание клеток, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2, увеличилось у пациентов, больных острым бруцеллезом, до $15,22 \pm 1,00$ % ($p > 0,05$). В контрольной группе уровень этих клеток практически не изменился и составил $7,47 \pm 0,50$ %.

Аналогичную закономерность в полученных результатах можно выявить и при анализе лимфоцитов, экспрессирующих маркеры поздней активации HLA-DR. В контрольных значениях до и после стимуляции бруцеллином изменения показателей не выявлено: $22,47 \pm 1,27$ % и $24,06 \pm 1,19$ % соответственно. Значительное увеличение лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR рецепторы, отмечено после стимуляции бруцеллином у больных острым бруцеллезом и составило $44,24 \pm 1,28$ %, по сравнению с уровнем этих показателей в пробах контрольной группы – $27,64 \pm 2,06$ %.

Таким образом, в данной работе описаны результаты исследования динамики экспрессии активационных молекул CD25 и HLA-DR Т-лимфоцитами периферической крови здоровых доноров и больных бруцеллезом в ответ на стимуляцию бруцеллином *in vitro*. Выявлено значительное увеличение клеток, экспрессирующих маркеры ранней и поздней активации, у пациентов с острым бруцеллезом. Использование методов специфической антигенной стимуляции при бруцеллезе может явиться дополнительными тестами диагностики заболевания. Кроме того, определение наличия клеточной активации в течение инфекционного заболевания позволит оценить остроту воспалительного процесса и провести мониторинг эффективности лечения.

УДК616.9: 579.25

Кошель Е. И., Куклев В. Е., Анисимова Л. В., Новичкова Л. А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *hms* ОПЕРОНА ДЛЯ АНАЛИЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ У ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* МЕТОДОМ ОТ-ПЦР-РВ ОЦЕНКИ КОЛИЧЕСТВА МРНК

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Большинство микроорганизмов может образовывать биопленку, которая защищает их от изменений условий окружающей среды, а виды патогенных – от действия иммунной системы хозяина. Возбудитель чумы *Yersinia pestis* также образует биопленку на различных типах абиотических и биотических поверхностей и использует это свойство для формирования «чумного» блока в пищеварительном тракте переносчика этой особо опасной инфекции – блохи. Наличие «чумного блока» – массивной биопленки в преджелудке блохи необходимо для эффективной трансмиссии чумы с помощью блох и для развития и поддержания эпизоотического процесса в период эпизоотий чумы в природных очагах. В связи с этим важным является разработка способов качественной и количественной оценки биопленкообразующей способности штаммов *Y. pestis* с помощью современных молекулярно-генетических методов, которые позволяют быстро и надежно оценить проявление этого признака. Традиционно используемые для этих целей фенотипические методы зависят от качества используемых сред и состояния бактериальной культуры, а также требуют значительного времени для проведения анализа.

В настоящее время для молекулярно-генетического анализа патогенных бактерий все чаще используется метод ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ), который позволяет определить уровень экспрессии генов факторов патогенности на основе оценки количества образуемых копий мРНК этих генов. Целью исследования была разработка способа количественной оценки мРНК генов *hms* оперона возбудителя чумы на основе ОТ-ПЦР-РВ и его использование для анализа эффективности образования экзополисахарида биопленки штаммами *Y. pestis* при разных температурах.

Образование биопленки у возбудителя чумы контролируется сложным регуляторным механизмом, зависящим от сигналов, поступающих из внешней среды. Основным компонентом биопленки является экзополисахарид – поли-N-ацетилглюкозамин, биосинтез которого и транспорт на

поверхность клетки кодируется генами *hmsHFRS* оперона хромосомной области пигментации возбудителя чумы. Эти же гены отвечают за образование пигментированных колоний на среде с Конго красным или гемином и за формирование «чумного блока» в пищеварительном тракте блохи. Один из генов *hms* оперона – *hmsH* детерминирует образование белка порина HmsH, ответственного за транспорт экзополисахарида на поверхность клетки. Функциональная активность HmsH непосредственно влияет на процесс образования биопленки возбудителем чумы. Этот ген использован нами для разработки способа количественной оценки мРНК генов *hmsHFRS* оперона возбудителя чумы с помощью ОТ-ПЦР-РВ.

Для разработки способа использован набор из 10 штаммов *Y.pestis* разных подвидов и биоваров. Из них 6 штаммов относятся к основному подвиду возбудителя чумы, в том числе 4 штамма античного биовара: 231(708), KM130, KM932, 934 и 2 штамма средневекового биовара: M956, A1792. Четыре штамма неосновных подвидов включают: С-534 кавказского подвида, И3000 алтайского подвида, И2422 улегейского подвида и А1726 гиссарского подвида. Большинство использованных штаммов; 231(708), С-534, И3000, И2422 и А1726 обладают хорошо выраженным Pgm⁺ фенотипом и стабильно образуют более 50 % пигментированных колоний на среде с Конго красным. Часть штаммов: KM932, 934, M956, А1792 растет на этой среде в виде слабопигментированных колоний, а один штамм KM130 полностью лишен этого свойства и образует только непигментированные колонии. Этот штамм является производным высоковирулентного, стабильно образующего пигментированные колонии штамма 231(708), который утратил способность к пигментсорбции, но сохранил свою вирулентность. Причиной Pgm⁻ фенотипа штамма KM130, как установлено нами ранее, является наличие в гене *hmsH* делеции единичного нуклеотида, которая приводит к сдвигу рамки считывания и нарушению части последовательности кодируемого этим геном белка HmsH. В результате такой мутации транспорт экзополисахарида на поверхность клетки прекращается, что, в свою очередь, ведет к утрате способности к формированию биопленки и пигментсорбции у этого штамма. У всех остальных исследованных Pgm⁺ штаммов нарушений структуры гена *hmsH* не выявлено.

Штаммы *Y. pestis* выращивались в течение 48 ч на плотной среде LB при температурах 28 °С и 37 °С. Нуклеиновые кислоты выделяли набором «Рибо-сорб» (производство ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва), после чего проводили удаление ДНК из образцов обработкой ДНКазой (производство «Fermentas», Литва). Синтез первой цепи кДНК осуществляли с использованием набора «Реверта-Л» (производство ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва). С полученными образцами кДНК проводили ОТ-ПЦР-РВ при помощи реагентов из коммерческого «Набора реагентов для выявления

РНК *Yersinia pestis*/*Francisella tularensis*, методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени» (производство ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Россия) и амплификатора «Rotor-Gene 6000» («Corbett research», Австралия). Концентрацию РНК в образцах измеряли при помощи спектрофотометра «Biowave DNA» («Biochrom Ltd.», Англия).

В качестве внешних стандартов при проведении ОТ-ПЦР-РВ использовали титры, содержащие в разной концентрации плазмиду pGEM-T с клонированным в нее участком гена *hmsH*. Полученные значения количества копий в 1 мкл образцов использовали для определения количества копий гена *hmsH* в 1 нг всей РНК образца.

При использовании разработанного способа для изучения штаммов *Y. pestis* мы установили, что у Pgm⁺ штаммов при температуре 28 °С экспрессия *hmsH* значительно выше, чем при 37 °С, что согласуется с классическими представлениями о механизмах образования биопленки у возбудителя чумы. Количество образуемых копий мРНК при 28 °С было в среднем в 3 раза выше, чем при 37 °С. Средний показатель экспрессии гена *hmsH* в 28 °С культурах составил 10096 копий/нг, а для 37 °С культур среднее значение равнялось 3470 копий/нг. Среди Pgm⁺ штаммов самый высокий показатель экспрессии выявлен у штамма И3000 алтайского подвида, у которого он составил 16823 копий/нг. Остальные штаммы образовывали от 11996 до 6078 копий/нг. Таким образом, полученные данные подтверждают гораздо более высокий уровень образования экзополисахарида у возбудителя чумы при 28 °С по сравнению с 37 °С.

У беспигментного штамма KM130, содержащего мутацию в гене *hmsH*, показатели экспрессии этого гена были значительно ниже при обеих температурах. При 28 °С и 37 °С количество копий не превышало 1200 копий/нг, в то время как у исходного штамма *Y. pestis*. 231(708) количество мРНК при 28 °С составило 8900 копий/нг, то есть в 7,6 раза больше, чем у штамма 130. Все эти результаты полностью согласуются с полученными нами ранее данными по сравнительному анализу продукции экзополисахарида штаммами *Y. pestis* основного и неосновного подвида, при 28 °С и 37 °С, в реакции с лектинами проростков пшеницы.

Неожиданные результаты дали штаммы, растущие в виде слабопигментированных колоний на среде с Конго красным. У штаммов M956, A1792, KM932 и 934 нам не удалось выявить экспрессии гена *hmsH*. Несмотря на высокий уровень тотальной РНК и успешный синтез кДНК в реакции обратной транскрипции, количество копий исследуемого гена в их образцах практически равнялось нулю при обеих температурах. Это однозначно свидетельствует о том, что ген *hmsH* у исследованных штаммов не экспрессировался в условиях нашего эксперимента, в отличие от других Pgm⁺ штаммов. Это может быть связано с отличиями в регуляции продукции экзополи-

сахарида биопленки у слабопигментированных штаммов *Y. pestis*.

Таким образом, мы показали, что оценка экспрессии гена *hmsH* методом количественного анализа мРНК с использованием ОТ-ПЦР-РВ может быть действенным способом анализа эффективности образования экзополисахарида биопленки штаммами *Y. pestis*. С помощью этого метода мы еще раз подтвердили наличие четкой связи между образованием экзополисахарида биопленки и свойством пигментсорбции у различных штаммов *Y. pestis*, а также – гораздо более высокий уровень образования экзополисахарида у возбудителя чумы при 28 °С по сравнению с 37 °С.

УДК 612.112.91:616.995.122-052

**Курлаева Л. В., Степанова К. Б.,
Степанова Т. Ф., Кальгина Г. А.,
Григорьева С. А., Созонова Т. А.**

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ

*ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора,
Тюмень*

Главной задачей иммунной системы является уничтожение чужеродного агента, которым может оказаться болезнетворный микроорганизм, в том числе и паразитарный.

Описторхоз – пероральный биогельминтоз, вызываемый трематодой семейства *Opisthorhidae* (*Opisthorchis felineus*). Заражение человека происходит при употреблении в пищу термически необработанной (необеззараженной), инвазированной личинками описторхисов рыбы семейства карповых (сазан, язь, елец, чебак, вобла, линь, лещ и др.). Описторхоз является эндемичным, но довольно распространенным заболеванием. Тюменская область находится в эпицентре самого крупного в мире природного очага описторхоза – Обь-Иртышского бассейна. Заболеваемость описторхозом в данном регионе превышает среднестатистические показатели в 10 раз. В Европейской части России описторхисами инвазировано около 0,02–0,1 % взрослого населения, пораженность ими населения некоторых районов территории Обь-Иртышского речного бассейна достигает 95 %. Следует отметить, что данные официальной статистики о заболеваемости населения описторхозом отражают лишь некоторую часть заболевших.

В иммунной системе организма существует множество способов обнаружения и удаления чужеродных агентов: этот процесс называется иммунным ответом (Петров Р. В., Лопухин Ю. М., Чередеев А. Н. и др., 1984). При паразитарных заболеваниях значимую роль в иммунном ответе

выполняют нейтрофилы (Яковлева В. В., Степанова Т. Ф., и др., 1995), которые являются эффекторными клетками на раннем этапе развития иммунного ответа.

Для оценки функциональной активности нейтрофилов при паразитарных заболеваниях используется спектрофотометрический метод определения активности микробицидного фермента миелопероксидазы. Принцип метода: лизат клеток при добавлении ортофенилендиамина и перекиси водорода дает цветную реакцию, которая позволяет оценить «респираторный взрыв» фагоцитов. В группе больных хроническим описторхозом до лечения была исследована концентрация миелопероксидазы, её значение соответствует 560 ± 68 у. е., что достоверно выше по сравнению с группой контроля (здоровые люди – $218 \pm 14,2$ у. е.). Высокий уровень миелопероксидазы свидетельствует о напряжении функционирования нейтрофилов больных хроническим описторхозом.

Также были проведены исследования функционирования нейтрофильного звена в организме больных хронической описторхозной инвазией – определяли поглотительную способность нейтрофилов с латексом и метаболическую функцию клеток в НСТ-тесте с пирогеналом: спонтанный и индуцированный варианты. У больных хроническим описторхозом до начала лечения поглотительная способность нейтрофилов с латексом соответствует нормальному значению. Количество активированных нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте *in vitro* выше, чем у здоровых лиц, и составляет $16 \pm 2,06$ и $10 \pm 0,5$ (соответственно). Это свидетельствует об интенсивной стимуляции нейтрофилов присутствующим в организме антигенным материалом. Количество клеток, стимулированных пирогеналом, в исследуемой группе снижено на 17 % и не достигает нормального значения. Коэффициент стимуляции у больных хроническим описторхозом составил $1,7 \pm 0,34$, что на 48 % ниже, чем у здоровых людей ($2,9 \pm 0,15$).

Таким образом, у больных хроническим описторхозом до лечения наблюдается снижение резервных возможностей нейтрофилов. Высокий уровень бактерицидного фермента миелопероксидазы у обследованных больных свидетельствует о включении компенсаторной реакции в инвазированном организме. Полученные нами результаты при использовании перечисленных выше лабораторных методов позволяют наблюдать нарушения функционирования сегментоядерных нейтрофилов у больных хроническим описторхозом и проводить иммунокорректирующую терапию в резидуальный период.

УДК 579.252.2:579.63

Лемасова Л. В., Савченко С. С.,
Ткаченко Г. А., Антонов В. А.

**ИНДИКАЦИЯ
И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ
ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ
В КОНТАМИНИРОВАННЫХ
ОБРАЗЦАХ МЕТОДОМ
МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР**

ФКУЗ Волгоградский
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Burkholderia mallei и *Burkholderia pseudomallei* – возбудители опасных инфекционных заболеваний сапа и мелиоидоза. Оба вида обладают выраженными патогенными свойствами для человека и животных, а также относятся к потенциальным агентам биотерроризма. Obligатный паразит *B. mallei* преимущественно проникает через поврежденные кожные и слизистые покровы, а также дыхательные пути, реже – через пищеварительный тракт. Естественной средой обитания сапрофита *B. pseudomallei* на эндемичных территориях с тропическим климатом являются: почва, стоячий водоем, пруд, рисовая плантация, загрязненные выделениями больных животных. Заражение человека может происходить при употреблении инфицированных продуктов или воды, аэрогенным путем (воздушно-пылевым), а также через мелкие повреждения кожи. Распространение и укоренение возбудителей в новых районах обитания возможно за счёт завоза больных животных, почвы, воды, а также пищевых продуктов, контаминированных *B. pseudomallei* и *B. mallei*.

Целью настоящей работы являлось изучение диагностической ценности разработанного набора праймеров и флуоресцентно-меченых гибридизационных зондов для обнаружения и дифференциации ДНК сапного и мелиоидозного микробов методом мультиплексной полимеразной цепной реакции при исследовании образцов, контаминированных патогенными буркхольдериями.

Объектами исследования служили пробы почвы, воды, зерновые культуры (рис), плазмы крови и слюны, искусственно контаминированные штаммами *B. pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 136 и *B. mallei* 10230, *B. mallei* Будапешт из коллекции ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Подготовку проб и обеззараживание материала для молекулярно-генетических исследований проводили в соответствии с МУ 4.2.2831-11 «Лабораторная диагностика сапа» и МУ 4.2.2787-10 «Лабораторная диагностика мелиоидоза». Штаммы возбудителей сапа и мелиоидоза выращивали на глюкозо-казеиновом агаре с глицерином при

(37±1)°С в течение 2 суток. Готовили бактериальные взвеси клеток в 4 мл 0,15М раствора натрия хлорида в концентрации 1×10⁹ м.к./мл, по отраслевому стандартному образцу мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича (ОСО 42-28-85П). Полученные суспензии клеток разводили таким образом, чтобы концентрация возбудителей сапа и мелиоидоза составляла от 1×10⁹ до 1×10² м.к./мл.

Исследования проводились по двум направлениям: для объектов окружающей среды (почва, вода открытых водоемов, пищевые продукты) на обнаружение ДНК *B. pseudomallei* и для диагностики инфекционных заболеваний (плазма крови, слюна) – на *B. mallei*, *B. pseudomallei*.

Жидкие пробы (вода) в количестве 900 мкл контаминировали 100 мкл бактериальной суспензии *B. pseudomallei* до конечной концентрации от 1×10² до 1×10⁵ м.к./мл. Образцы тщательно перемешивали на вортексе и инкубировали при комнатной температуре в течение часа. Пробирки центрифугировали при 12000 об/мин в течение 5 мин. Затем надосадочную жидкость отбирали и оставляли для выделения ДНК осадок клеток в объеме 100 мкл. Почву в количестве 0,1 г контаминировали 100 мкл бактериальной суспензии *B. pseudomallei* до конечной концентрации от 1×10² до 1×10⁵ м.к./100 мг.

Далее к пробе добавляли лизирующий раствор. Пробы зерновых культур (рис) массой 10 г помещали в стерильную микробиологическую посуду, добавляли 20 мл стерильной дистиллированной воды, затем тщательно перемешивали, встряхивали и для оседания крупных частиц отстаивали в течение 30 минут. Надосадочную жидкость в количестве 900 мкл переносили в микропробирки объемом 1,5 мл, контаминировали 100 мкл бактериальной суспензии *B. pseudomallei* до конечной концентрации от 1×10² до 1×10⁵ м.к./мл, тщательно перемешивали на вортексе и инкубировали при комнатной температуре в течение часа. Пробирки центрифугировали при 12000 об/мин в течение 5 мин. Супернатант отбирали и оставляли для выделения ДНК осадок клеток в объеме 100 мкл, затем добавляли лизирующий раствор.

Биологический материал (слюна, плазма крови) в количестве 100 мкл контаминировали 100 мкл взвеси клеток возбудителя сапа (*B. mallei* 10230, *B. mallei* Будапешт) до конечной концентрации от 1×10² до 1×10⁵ м.к./мл, тщательно перемешивали на вортексе и инкубировали при комнатной температуре в течение часа. Далее к пробам добавляли лизирующий раствор. Плазму крови аналогично контаминировали бактериальной суспензией возбудителя мелиоидоза (*B. pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 136).

Пробоподготовку образцов слюны выполняли с помощью «Муколизина» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва). Экстракцию ДНК из проб воды, плазмы крови и слюны проводили с помощью коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ

Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва). Из проб зерновых культур и почвы выделяли ДНК с использованием коммерческих наборов «Ампли-Прайм РИБО-золь» и «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва).

Для осуществления видовой дифференциации патогенных буркхольдерий методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени был осуществлен дизайн праймеров, где в качестве ДНК-мишеней были выбраны следующие нуклеотидные последовательности: специфичный для *B. mallei* фрагмент гена *fliP*, кодирующий белок биосинтеза флагеллина, и специфичный *B. pseudomallei* участок гена, кодирующий белок *gp88*. На данные фрагменты ДНК нами сконструированы две пары амплификационных праймеров и разработаны флуоресцентно-меченые гибридизационные зонды, имеющие структуру «молекулярных маячков». Праймеры и олигонуклеотидные зонды синтезированы фирмой ЗАО «Синтол» (г. Москва). Амплификацию с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в формате реального времени осуществляли на приборе «Rotor-Gene 6000» («Corbett Research, Австралия). На чистых бактериальных культурах штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei*, штаммов близкородственных буркхольдерий (*B. thailandensis*, *B. cepacia*) и гетерологичных микроорганизмов отработаны оптимальные параметры реакции (состав реакционной смеси – концентрация праймеров, зондов, Таq-полимеразы, Mg^{2+} ; программа амплификации – температура отжига праймеров, продолжительность каждого шага цикла амплификации, количество циклов, длительность предварительной денатурации).

При исследовании искусственно контаминированных проб методом мультиплексной ПЦР в реальном времени с разработанным набором праймеров и флуоресцентно-меченых зондов для обнаружения ДНК возбудителя мелиоидоза чувствительность реакции составила для воды и плазмы крови 1×10^3 м.к./мл в 100 % случаях, образцов зерновых культур и почвы – 1×10^4 м.к./мл в 100 % случаях; специфичность – 100 %; воспроизводимость – 100 %. При выделении ДНК возбудителя сапа чувствительность реакции при исследовании искусственно контаминированных проб слюны и плазмы крови составила 1×10^3 м.к./мл в 100 % случаях; специфичность – 100 %; воспроизводимость – 100 %.

Таким образом, в результате проведенных исследований показана возможность применения разработанного набора праймеров и флуоресцентно-меченых зондов для обнаружения и дифференцирования ДНК сапного и мелиоидозного микробов методом мультиплексной ПЦР в реальном времени в объектах окружающей среды и биологическом материале. Полученные данные позволяют предполагать, что использование сконструированной тест-системы для эпидемиологического мониторинга за возбудителями особо опасных инфекций

повысит эффективность надзора за заболеваниями, вызванными патогенными буркхольдериями и даст возможность с высокой чувствительностью и специфичностью быстро получить результат.

УДК 575.224.46

Молчанова Е. В., Викторова Д. В.

**ХАРАКТЕРИСТИКА
ИНСЕРЦИОННЫХ
ТРАНСПОЗОННЫХ МУТАНТОВ
BURKHOLDERIA MALLEI,
ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ
СИСТЕМЫ
EZ::TN<R6Kγori/KAN-2>Tnp**

ФКУЗ Волгоградский

*научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Волгоград*

Возбудитель сапа – *Burkholderia mallei* относится ко II группе патогенности и, по мнению отечественных и зарубежных специалистов, является потенциальным агентом биотерроризма, что актуализирует молекулярно-генетические исследования его генома.

Достижения современной фундаментальной науки и развитие молекулярно-генетических технологий внесли значительный вклад в совершенствование средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней. На сегодняшний день полностью секвенированы геномы многих штаммов возбудителей особо опасных инфекций. Несмотря на созданные генные библиотеки до сих пор остаются открытыми вопросы структурно-функциональной организации генов как отдельных факторов вирулентности, так и этапов патогенеза.

Транспозонный мутагенез исторически использовался для открытия функций отдельных генов и выявления механизмов клеточных процессов. На данный момент существуют готовые транспозонные комплексы на основе различных векторов с высокой частотой передачи и встройки (EZ-Tn5TM или НурегМиTM), каждый из которых содержит ген устойчивости к антибактериальному препарату – канамицину, тетрациклину, триметоприму, хлорамфениколу, обеспечивающий удобство селективного отбора мутантов. Количество образования транспозонных клонов в значительной мере зависит от эффективности трансформации клетки реципиента. Благодаря системе EZ-Tn5TM посредством электропорации возможно осуществить направленное «выключение» определенной генной последовательности в геноме исследуемого микроорганизма. Вставку, где ДНК-мишень будет замещать имеющуюся исходную последователь-

ность определенного гена, локализируют входящими в набор праймерами (прямой и обратный), а в дальнейшем инсерцию секвенируют. Анализ и сопоставление фенотипа и генотипа клонов и исходного штамма позволяют выявить функции отдельных генов.

Целью этой работы являлся анализ эффективности системы EZ::TN<R6K γ ori/KAN-2>Tnp для получения инсерционных мутантов *B. mallei* методом электропорации.

Материалы и методы. *Штаммы и питательные среды.* В работе был использован штамм *B. mallei* Ц-5 дикого типа. Культуры выращивали на Мюллер-Хинтон и N-агаре, а также N-бульоне («Difco», США) при температуре 37 °С.

Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) антибиотиков. МПК офлоксацина (Ofx), тетрациклина (Tet), канамицина (Kan), хлорамфеникола (Chl), цефоперазона (Cprz) определяли методом серийных разведений по стандартной методике.

Инсерционный мутагенез. Из 18 ч агаровой культуры *B. mallei* Ц-5 готовили взвесь 1×10^9 м.к./мл в охлажденном 10% глицерине, 40 мкл которой ресуспендировали 1 мкл EZ::TN<R6K γ ori/KAN-2>Tnp в микроцентрифужных пробирках. Далее смесь переносили в охлажденные 1-мм кюветы и проводили электропорацию при напряжении в 1,8 kV с 3-кратным импульсом. После этого сразу же в кювету добавляли N-бульон (1 мл), ресуспендировали, и взвесь в бульоне переносили в широкие пробирки для подращивания при 37 °С в течение 24 ч в количестве 0,1 мл высевали на N-агар и инкубировали при 37 °С, в течение 24 ч.

Далее готовили взвесь 1×10^9 м.к./мл в 0,5M NaCl и по 0,1 мл высевали на селективные среды (канамицин 2,5 мкг/мл). Частоту инсерции рассчитывали соотношением числа выросших клонов на селективных средах к общему числу клеток в инокуляте.

Определение цитопатогенности. Уровень цитопатогенного эффекта штаммов определяли, помещая лист *Peireskia aculeata* на ватный тампон в чашку Петри. Нижнюю сторону листовой пластинки протирали 70 % раствором этилового спирта, повреждали скальпелем и наносили 0,01 мл культуры *B. mallei* в концентрации 1×10^9 м.к./мл, инкубировали 48 ч при 37 °С; степень цитопатогенного эффекта определяли по зоне мацерации, изъязвления и почернения листовой пластинки.

Результаты и обсуждение. Для получения инсерционных мутантов была использована система EZ::TN<R6K γ ori/KAN-2>Tnp и штамм *B. mallei* Ц-5, обладавший, как было показано ранее, способностью эффективно воспринимать применявшийся для мутагенеза транспозон Tn5. Канамицинрезистентные трансформанты *B. mallei* образовывались с частотой $n \times 10^{-6}$ на клетку-реципиент. В результате было изолировано 8 мутантных клонов.

У полученных мутантов *B. mallei* Ц-5::Tn5 определяли уровень приобретенной резистентности к

антибиотику, детерминированному генами транспозона (канамицин), перекрестную устойчивость к другим препаратам и ингибиторам (красителям), наличие изменений в гемолитической активности и продукции экзополисахарида, а также аукотрофность.

Полученные мутанты *B. mallei* Ц-5::Tn5 характеризовались наибольшими изменениями в уровне устойчивости к канамицину и тетрациклину. При этом резистентность к первому была опосредована транспозоном Tn5, который увеличил ее уровень в 5–12 раз. Увеличение показателей МПК ко второму антибактериальному препарату может предполагать участие и иных механизмов формирования перекрестной лекарственной резистентности (клон *B. mallei* Ц-5::Tn5/5), а повышение чувствительности к тетрациклину, возможно, обусловлено инсерцией транспозона в сайт генной последовательности, детерминирующей устойчивость к тетрациклину. Устойчивость к хлорамфениколу, офлоксацину и цефоперазону осталась практически на прежнем уровне.

Анализ гемолитической активности штаммов *B. mallei* Ц-5::Tn5 показал отсутствие изменений по сравнению с диким исходным штаммом.

Ингибиторами роста бактерий могут выступать анилиновые красители, устойчивость к которым может также изменяться и служить показателем генетических перестроек. Характер роста полученных клонов *B. mallei* Ц-5::Tn5 на среде с основным фуксином выявил различия в этом у 6 мутантов по сравнению с диким штаммом, которые в целом снизили резистентность и характеризовались отсутствием роста на этих средах.

Адсорбция клетками колоний липофильного красителя судана черного характеризуется отсутствием продукции экранирующего гидрофильного экзополисахарида. Так, клетки исходного штамма *B. mallei* Ц-5 не обладали способностью к окрашиванию данным красителем, однако 2 транспозонных варианта *B. mallei* Ц-5::Tn5/3 и *B. mallei* Ц-5::Tn5/5 приобрели такую способность, что указывало на встраивание транспозона в локус, детерминирующий данный экзополисахарид.

Определение питательных потребностей по схеме Холлидея показало, что включение транспозона Tn5 индуцировало у трех клонов *B. mallei* Ц-5::Tn5/2, *B. mallei* Ц-5::Tn5/6, *B. mallei* Ц-5::Tn5/7 мутации зависимости от α -оксоглутарата, триптофана и гистидина соответственно.

Благодаря экспериментальным и клиническим наблюдениям широко известно о снижении вирулентности у антибиотикорезистентных клонов. В этой работе в качестве одного из косвенных показателей, подтверждающего эту закономерность, мы использовали цитопатогенность. Повреждения клеток растения *P. aculeata*, вызванные инсерционными мутантами *B. Mallei*, были значительно слабее опосредованных исходным диким штаммом, который давал почернение и изъязвление листовой пластинки по месту надреза, с отсутствием

мацерации. При этом клоны отличались между собой. Так, варианты *B. mallei* Ц-5::Tn5/2, *B. mallei* Ц-5::Tn5/6 и *B. mallei* Ц-5::Tn5/7 не обладали цитопатогенным эффектом в использованном тесте, а клон *B. mallei* Ц-5::Tn5/4 характеризовался легкой степенью повреждения листовой пластинки.

Заключение. Таким образом, выполненное исследование продемонстрировало возможность использования системы EZ::TN<R6K_{ori}/KAN-2>T_{np} для эффективного транспозонного мутагенеза штаммов *B. mallei*. В результате проведенной работы отработаны условия электропорационной передачи конструкции EZ::TN и дана первичная характеристика полученных инсерционных мутантов *B. mallei* (устойчивость к канамицину, изменение резистентности к тетрациклину и красителям – основному фуксину, ауксотрофность по α-оксоглутарату, триптофану и гистидину, снижение уровня цитопатогенности для *P. aculeata*). Дальнейшая работа в этом направлении будет способствовать установлению роли отдельных генов в реализации важнейших биологических свойств этого патогена человека и животных.

УДК616.9: 579.25

**Оглодин Е. Г., Черкасов А. В.,
Новичкова Л. А., Ерошенко Г. А.**

**СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ
КРИПТИЧЕСКОЙ ПЛАЗМИДЫ
И ПЦР-ДЕТЕКЦИЯ СОДЕРЖАЩИХ
ЕЕ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*
ИЗ ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОГО
ВЫСОКОГОРНОГО ОЧАГА ЧУМЫ**

*ФКУЗ Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора,
Саратов*

Геном *Yersinia pestis* включает, как правило, три плазмиды: pCad, pFra и pPst, – каждая из которых вносит свой вклад в патогенность на разных этапах развития инфекционного процесса. Кроме этих трех плазмид, у отдельных популяций или штаммов *Y. pestis* встречаются другие плазмиды, которые могут быть их рекомбинантами или новыми репликонами с неизвестными функциями. Среди последних известны криптические плазмиды штаммов *Y. pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы в России, штаммов из очагов чумы в Китае. Повидимому, криптические плазмиды содержат гены, продукты которых являются факторами патогенности или адаптации к конкретным ландшафтно-географическим условиям, что дает селективное преимущество содержащим их штаммам.

На территории Центрально-Кавказского высоко-

горного очага чумы в России выделены штаммы *Y. pestis* основного подвида средневекового биовара, которые отличаются от других штаммов этого биовара уникальными питательными потребностями, сниженной вирулентностью и наличием криптической плазмиды с неизвестными функциями. Выполненное нами недавно полногеномное секвенирование одного из таких штаммов показало, что он относится к древней линии средневекового биовара, ранее не описанной в отечественной и зарубежной литературе [Одинокоев и др., 2013]. В геноме этого штамма содержится небольшой криптический репликон, функции которого неизвестны. Возможно, он включает гены факторов патогенности или адаптации, которые обеспечили сохранение этой древней группы штаммов *Y. pestis* в ландшафтно-климатических условиях Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. Репликон обозначен нами как pСКФ по названию Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы.

Целью работы было проведение анализа полной нуклеотидной последовательности криптической плазмиды pСКФ и разработка способа детекции содержащих ее штаммов *Y. pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов.

Определение нуклеотидной последовательности плазмиды проводили на секвенаторе Genetic Analyzer «SEQ 8000» (Beckman Coulter). Сборку полной последовательности плазмиды осуществляли с помощью программного обеспечения UGENE версии 1.12.2. После финализации сборки получен замкнутый в кольцо репликон размером 5,4 т.п.н. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности плазмиды осуществляли с применением сервера RAST, а аминокислотных последовательностей кодирующих участков – с помощью алгоритма Psi-BLAST, на основе данных баз PATRIC, NCBI GenBank, Uniprot, Pfam и EMBL.

В результате проведенного анализа полной нуклеотидной последовательности плазмиды pCRF с помощью сервера поиска открытых рамок считывания RAST и алгоритма NCBI GenBank glimmer3 установлено, что в ней содержится 8 открытых рамок считывания. Среди них с вероятностью более 70 % идентифицирован ген белка репликации и два гена *vir*-подобной системы секреции IV типа – *virB6* и *virB5*. По аминокислотной последовательности продуктов генов *virB6* и *virB5* установлено также наличие гомологии с аналогичными белками СС4Т *Y. enterocolitica*. СС4Т участвует в секреции широкого спектра веществ, включая большие ДНК-белковые комплексы. Она также является важным фактором патогенности, который бактерии используют для секреции эффекторных белков в клетки хозяина или для передачи плазмид с генами антибиотикорезистентности. Ранее присутствие части *vir* генов СС4Т было выявлено в плазмиде pCRY размером около 22 т.п.н. секвениро-

ванного штамма *Y. pestis* 91001 microtus из Китая (Song Y., et al., 2004).

Функции части других кодирующих последовательностей плазмиды рСКФ предположительно установлены нами на основе выявления гомологичных аминокислотных последовательностей кодируемых ими продуктов в базах данных PATRIC, NCBI GenBank, Uniprot, Pfam и EMBL. Одна из кодирующих последовательностей гомологична белку СС4Т *Y. enterocolitica*. Продукт другого гена имеет значительную гомологию с АВС транспортными С-концевыми пермеазами. Белки этого семейства встречаются только у прокариотов и принимают участие в транспорте широкого спектра субстратов: от небольших ионов до макромолекул. Еще один ген плазмиды рСКФ, по-видимому, участвует в процессе транскрипции ДНК. Белки двух других генов гомологичны гипотетическим белкам *Escherichia coli* и *Streptococcus parasanguinis* с неизвестными функциями. В целом полученные нами данные свидетельствуют о том, что гены, расположенные на плазмиде рСКФ, связаны с процессами репликации ДНК, транспорта и секреции, в том числе – с помощью *vir*-, подобной СС4Т. Очевидно, что наличие этих генов сообщает дополнительные преимущества содержащим ее штаммам *Y. pestis*.

Нуклеотидная последовательность плазмиды рСКФ была использована нами для разработки простого и быстрого способа выявления содержащих ее штаммов *Y. pestis* основного подвида средневекового биовара из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. Участок с координатами 3205–3332 п.н. от начала репликации плазмиды был применен в качестве ДНК-мишени при разработке ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов. На этот участок рассчитаны праймеры и зонд в формате TaqMan. Определены оптимальные условия проведения ПЦР. Амплификацию ДНК осуществляли в амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). На этапе отжига праймеров проводили учет флуоресценции, уровень порога равнялся 0,05, специфичность реакции определялась значением St менее 31.

У пролинзависимых штаммов из Центрально-Кавказского высокогорного очага в разработанной нами ПЦР наблюдается положительный гибридационно-флуоресцентный сигнал, который отсутствует у штаммов *Y. pestis* других биоваров и подвигов. Эффективность разработанной ПЦР подтверждена на 144 различных штаммах *Y. pestis*, включая 65 штаммов средневекового биовара и 22 пролинзависимых штамма этого биовара из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. Использование в ПЦР праймеров и зондов на участок плазмиды рСКФ обеспечивает выявление содержащих ее штаммов и их дифференциацию от штаммов других биоваров и подвигов возбудителя чумы.

Таким образом, нами впервые определена полная нуклеотидная последовательность и проведен

структурно-функциональный анализ криптической плазмиды размером 5,4 т.п.н. из штаммов *Y. pestis* средневекового биовара из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. По-видимому, плазмиды рСКФ кодирует белки, участвующие в секреции и транспорте веществ во внешнюю среду или в клетки хозяина, что дает селективное преимущество содержащим ее штаммам. Нами также впервые разработан эффективный способ выявления рСКФ-содержащих штаммов средневекового биовара в ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов, использование которого позволяет ускорить процедуру молекулярной идентификации этих штаммов.

УДК 576.851.49:551.48+616.9–078

Панасовец О. П.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

ФБУН «Ростовский
научно-исследовательский институт
микробиологии и паразитологии»
Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Сальмонеллез занимает одно из ведущих мест в мире среди острых кишечных заболеваний (ОКИ). Это объясняется высокой адаптационной способностью (обладают высокой толерантностью к абиотическим факторам), полипатогенностью и полигостальностью этих микроорганизмов, а также различными путями передачи возбудителя. Один из способов передачи сальмонелл – водный фактор. Известно, что эти бактерии не только выживают в водной среде, но и размножаются, что повышает риск возникновения ОКИ.

Хотя на сегодняшний день бактериологический метод является «золотым стандартом», при выделении сальмонелл из водных объектов, тем не менее существуют современные методы идентификации, например, ПЦР и масс-спектрометрия (MALDI-TOF).

Цель работы: оценить возможность применения ПЦР и масс-спектрометрии для идентификации сальмонелл, выделенных в воде р. Дон.

Материалом для исследований послужила вода Нижнего Дона, отобранная в биотопах с различной степенью биологического загрязнения.

Выделение и количественный учет сальмонелл проводили с использованием разработанной нами питательной среды накопления и МР № 07-03-10/3846а «Использование готовой к применению питательной среды для выделения сальмонелл из водных объектов», с дальнейшим пересевом

на висмут-сульфит агар и среду XLD. Подозрительные на сальмонеллы колонии переседали на мясо-пептонный агар и после 24 ч инкубации, при температуре 37 °С, проводили идентификацию с использованием ПЦР и MALDI-TOF.

Было исследовано 98 проб воды. С помощью метода ПЦР и MALDI-TOF сальмонеллы идентифицированы в 70 % проб.

В то же время с помощью ПЦР-анализа можно лишь констатировать наличие искомым бактерий в воде (качественный показатель), но идентифицировать до сероваров, а следовательно, и определить эпидемиологию острых сальмонеллезов и подтвердить водный путь их распространения не представляется возможным. Соответственно, данный метод можно использовать только для ответа о наличии фрагментов ДНК *Salmonella* spp в исследуемой воде.

С помощью метода MALDI-TOF культуры сальмонелл были отнесены к 6 сероварам. Ведущее положение занимали серовары группы С и Е: 41 % и 39 % соответственно. Группа D была представлена 19 % культур. Наиболее часто обнаружены: *S. anatum* – 39 %, *S. hadar* – 25 % и *S. cholerasuis* – 16 %. *S. enteritidis* обнаружена всего в двух случаях.

Таким образом, применение метода MALDI-TOF, в отличие от ПЦР, помогает быстро идентифицировать сальмонеллы вплоть до серовара, что позволяет в случае необходимости определить эпидемиологическое значение роли воды в распространении сальмонеллезных гастроэнтеритов. К несомненным достоинствам этого метода следует отнести и экономическую составляющую.

УДК 616.932:577.21

Плеханов Н. А.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СТРУКТУРНЫЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАННОЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИХ ПИЛЕЙ АДГЕЗИИ В ШТАММАХ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAE* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Холерный вибрион – *Vibrio cholerae* является возбудителем особо опасной инфекционной болезни – холеры. Всего в истории человечества известно семь пандемий холеры. Первые шесть предположительно были вызваны токсигенными штаммами *V. cholerae* O1 серогруппы классического биовара. Возбудителями текущей, 7-й пандемии являются токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 се-

рогруппы биовара Эль Тор. Эволюционные изменения Эль Тор-вибрионов и приобретение ими в результате горизонтального переноса гена *ctxB* классических вибрионов привели к появлению в 1992 году новых генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор или геновариантов [Смирнова с соавт., 2008; Nair et al., 2002]. Ген *ctxB* входит в состав оперона *ctxAB*, кодирующего биосинтез холерного токсина – основного фактора патогенности холерного вибриона. В результате приобретения аллеля *ctxB* классических вибрионов геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор стали продуцировать больше холерного токсина, в отличие от типичных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, вызвавших текущую пандемию. Повышение вирулентности геновариантов приводит к увеличению числа заболевших и к более тяжелым формам заболевания. Имея высокий эпидемический потенциал, геноварианты в настоящее время получили глобальное распространение в мире и с 1993 года завозятся в Российскую Федерацию, вызывая вспышки и единичные случаи заболевания.

Однако холерный вибрион является не только патогеном человека, но и при попадании в окружающую среду становится обитателем пресных и соленых водоемов. При смене среды обитания в клетках *V. cholerae* снижается продукция факторов вирулентности, но активно начинают экспрессироваться гены факторов адаптации, способствующие выживанию патогена в данной среде обитания. В том числе показано увеличение экспрессии генов, кодирующих биосинтез маннозочувствительных гемагглютинирующих пилей адгезии (MSHA), необходимых для формирования биопленки [Yildiz, Visick, 2009; Lutz et al., 2013]. Как известно, в составе биопленки холерные вибрионы защищены от действия различных повреждающих факторов внешней среды и могут длительное время сохраняться в воде открытых водоемов. MSHA-пили располагаются на поверхности бактериальной клетки и участвуют в первом этапе формирования биопленки – прикреплении микроорганизма к субстрату. При отсутствии продукции данных пилей биопленка не образуется. Биосинтез MSHA-пилей кодируют 16 генов, объединенных в два оперона (структурный и регуляторный) и расположенных на острове персистенции EPI (от англ. environmental persistence island), на большой хромосоме. При этом ген *mshA* кодирует биосинтез основной субъединицы MSHA-пилей, гены *mshB-N* ответственны за биосинтез белков, обеспечивающих сборку и секрецию пилей. Белок MshE (52,5 kDa) выполняет функцию АТФазы [Marsh J. W. et al., 1996, Marsh J. W., Taylor R. K., 1999], MshJ относится к белкам системы секреции II типа и совместно с MshN участвует в сборке и секреции MSHA-пилей. По данным литературы, известно, что геноварианты, так же как и типичные Эль Тор-вибрионы, содержат *msh* оперон, но сведения о сравнительной продукции ими MSHA-пилей отсутствуют. В то же время изучение механизмов

адаптации геновариантов, способствующих их выживанию во внешней среде, позволят понять причины селективного преимущества штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в современный период.

Учитывая важную роль MSHA-пилей в выживании холерного вибриона во внешней среде, цель нашего исследования состояла в проведении сравнительного анализа продукции маннозочувствительных гемагглютинирующих пилей адгезии у типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, и изучении структуры генов, участвующих в их биосинтезе, в штаммах геновариантов.

Исследования были проведены на 35 клинических штаммах *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных на территории России от больных во время вспышек и единичных случаев холеры в период с 1970 по 2010 г. Штаммы хранились в лиофилизированном состоянии в Государственной коллекции патогенных бактерий института «Микроб». Культивирование штаммов осуществляли на агаре и бульоне LB при температуре 37 °С. Продукцию MSHA-пилей определяли, учитывая максимальное разведение культуры, дающее видимую агглютинацию эритроцитов I группы человека [Hanne L. F., Finkelstein R. A., 1982]. Наличие гена *mshA* определяли методом ПЦР по описанной ранее методике [Осин А. В. с соавт., 2005].

При проведении ПЦР-анализа было установлено, что в геноме всех исследуемых штаммов присутствует ген *mshA*, что может указывать на биосинтез штаммами MSHA-пилей. Действительно, все изученные типичные штаммы и геноварианты, кроме штамма *V. cholerae* M1429 (Башкирия, 2004), продуцировали MSHA-пили. При этом значительных отличий по биосинтезу данных пилей между типичными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор, изолированными в начале текущей пандемии холеры (1970–1990 г.г.), и штаммами геновариантов, завезенными в 1993–2010 г., не выявлено. Таким образом, геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор не отличаются от типичных Эль Тор-вибрионов по способности синтезировать MSHA-пили.

Далее был проведен анализ нуклеотидной последовательности генов, входящих в *msh* оперон, в четырех штаммах геновариантов: *V. cholerae* M1293 (Дагестан, 1993), P17644 (Ачинск, 1997), P18899 (Мурманск, 2006) и L3226 (Москва, 2010), – полногеномные последовательности которых любезно предоставлены зав. лабораторией геномного и протеомного анализа, к.х.н. Красновым Я. М. и н.с. Черкасовым А. В. Анализ нуклеотидной последовательности генов проводили с помощью программного комплекса DNASTAR SeqMan pro. В результате установлено, что нуклеотидная последовательность гена *mshA* одинакова у всех исследованных штаммов геновариантов и идентична референс-штамму *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор. При этом у штамма M1293, изолированного в 1993 году, структура остальных генов *msh* оперона

также полностью совпадала с референс-штаммом. В то же время у штаммов P17644, P18899, L3226, выделенных в более поздний период, уже обнаружены несинонимичные однонуклеотидные замены (SNP) в генах *mshJ* (замена А на G в позиции 560) и *mshE* (замена G на А в позиции 1307). Необходимо отметить, что аналогичные замены были обнаружены зарубежными авторами у штаммов, выделенных во время эпидемии на острове Гаити в 2010 году [Sealfon et al., 2012]. Кроме того, в штамме P17644 обнаружена делеция одного нуклеотида в позиции 255 в гене *mshN*.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор, также как и типичные Эль Тор-вибрионы, продуцируют MSHA-пили, поэтому, возможно, способны формировать биопленку и длительное время сохраняться во внешней среде. Анализ нуклеотидной последовательности *msh* оперона в штаммах геновариантов, показал стабильное сохранение структуры гена *mshA*, кодирующего основную субъединицу маннозочувствительных гемагглютинирующих пилей адгезии во всех исследованных штаммах геновариантов. При этом в штамме геновариантов, изолированном в период появления геновариантов (1993 г.), структура *msh*-оперона идентична типичным Эль Тор-вибрионам. В то же время в штаммах, выделенных в более поздний и в современный период (1997–2010 г.г.), выявлены SNP в генах, участвующих в сборке и секреции MSHA-пилей, которые, однако, не оказывали влияние на биосинтез данных пилей адгезии.

УДК 616.98-079:579.841.93

**Пономаренко Д. Г., Саркисян Н. С.,
Костюченко М. В., Ракитина Е. Л.,
Логвиненко О. В.**

**ПРИМЕНЕНИЕ
ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ
ДЛЯ УЧЕТА РЕАКЦИИ
АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ
АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ
IN VITRO, ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ
НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА
К ВОЗБУДИТЕЛЮ БРУЦЕЛЛЕЗА**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Бруцеллез является одной из наиболее распространенных в мире зоонозных инфекций. Ежегодно регистрируется около 500 тыс. случаев первично диагностированного бруцеллеза; наиболее высокая заболеваемость отмечается в странах Средиземноморского бассейна, Персидского зали-

ва, Ближнего Востока, Индийского полуострова, а также – части Южной и Центральной Америки.

Эпидемическая обстановка по бруцеллезу в Российской Федерации продолжает оставаться неблагоприятной, однако анализ доступной литературы позволил установить за последнее десятилетие относительное снижение заболеваемости людей бруцеллезом в Российской Федерации – до 341 случая (2013 г.). Показатель заболеваемости составил 0,24 на 100 тыс. населения. При этом имеются все основания настороженно относиться к указанным данным, так как ежегодно сокращается лабораторное обследование на бруцеллез лиц, профессионально связанных с риском заражения бруцеллезом, практически не проводятся профосмотры с лабораторным обследованием на бруцеллез работников коммерческих предприятий и хозяйств.

Основой специфической профилактики бруцеллеза является вакцинация. Для иммунизации людей против бруцеллеза применяется вакцина, приготовленная из вакцинного штамма *B. abortus 19 VA*, которая способствует сохранению напряженного иммунитета в течение 5–6 месяцев. Так как ревакцинация лиц из группы риска осуществляется через 12 месяцев, имеется риск инфицирования людей в течение 6–7 месяцев.

Для оценки напряженности противобруцеллезного иммунитета в настоящее время используются реакции, основанные на выявлении специфических антител; однако известно, что ведущая роль в защите организма от бруцелл принадлежит клеточному звену иммунитета, соответственно серологические методы только косвенно могут указывать на напряженность противобруцеллезной защиты.

Учитывая, что эпидемиологическая эффективность вакцинации против бруцеллеза зависит от правильного определения показаний к ее проведению, полноты отбора контингента, подлежащего иммунизации, и оценки эффективности иммунизации, необходимо совершенствование методов определения уровня напряженности поствакцинального иммунитета.

В последние годы напряженность поствакцинального иммунитета все чаще оценивается методом антигенной активации иммунокомпетентных клеток *in vitro* с использованием технологий проточно-цитометрического анализа клеток. В многочисленных исследованиях отечественных и зарубежных авторов продемонстрирована высокая эффективность применения методов антигенной активации лейкоцитов *in vitro* для выявления уровня специфической невосприимчивости организма к патогенам.

Учитывая вышеизложенное, актуальными являются разработка и внедрение в практику принципиально новых подходов к оценке *in vitro* напряженности клеточного иммунитета организма и его невосприимчивости к возбудителю бруцеллеза.

Цель работы – изучить возможность и перспективу использования иммунофенотипирования для

учета реакции антигенспецифической активации лимфоцитов *in vitro* при определении напряженности иммунитета к возбудителю бруцеллеза.

Объектом исследования явились 47 человек. Из них – 14 человек, первично вакцинированных против бруцеллеза (ФГУП «НПО Микроген», Россия) на 30-е сутки после иммунизации, и 17 человек – через 12 месяцев после вакцинации. Контрольную группу составили 16 человек, не имевших в анамнезе симптомов аллергии, не болевших, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции.

Напряженность клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза определяли в реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Учет результатов реакции осуществляли модифицированным нами методом, который заключается в использовании моноклональных антител против маркера гемопоэтических клеток – CD34⁺ (Beckman Coulter, США) с последующим проточно-цитометрическим анализом исследуемого образца с помощью проточного цитофлуориметра FACS Calibur (Beckton Dickinson, США). Обеззараживание исследуемого материала осуществляли в соответствии с СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента, при уровне достоверности $P \geq 0,95$.

При постановке РБТЛ с иммунофенотипическим учетом результатов в контрольной группе количество бластных форм лимфоцитов до и после активации бруцеллином не имело статистически значимой разницы, составляя в среднем $0,52 \pm 0,12 \%$ и $0,59 \pm 0,11 \%$ соответственно.

Анализ напряженности клеточного противобруцеллезного иммунитета в реакции РБТЛ у вакцинированных, обследованных на 30 сутки после иммунизации, позволил установить повышение специфической клеточной сенсibilизации, что выразилось в статистически значимом увеличении количества бласт-трансформированных лимфоцитов при активации бруцеллином с $0,84 \pm 0,07 \%$ до $5,80 \pm 0,48 \%$ соответственно.

Исследование напряженности поствакцинального иммунитета лиц, обследованных через 12 месяцев после проведения профилактических прививок против бруцеллеза, выявило наличие выраженного клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза у 23,5 % обследованных, однако у большинства привитых (76,5 %) уровень клеточной активации находился на уровне $1,91 \pm 0,17 \%$, что в значительной степени превышало данные контрольной группы ($0,59 \pm 0,11 \%$).

Учитывая вышеизложенное, предложен принципиально новый инструментальный метод оценки реакции бластной трансформации лимфоцитов

с антигеном, основанный на использовании иммунофенотипирования, с помощью моноклональных антител к CD34⁺ и учетом реакции с использованием проточной цитометрии.

Таким образом, показана принципиальная возможность и перспектива использования метода антигенной активации лейкоцитов *in vitro* и технологии проточной цитометрии при проведении обследования контингента, подлежащего вакцинации против бруцеллеза, и с целью оценки эффективности проведения специфической профилактики бруцеллеза.

УДК: 579.61:616-078

**Рыковская О. А., Чемисова О. С.,
Смоликова Л. М., Монахова Е. В.,
Сагакянц М. М., Харабаджахан Г. Д.,
Водяницкая С. В.**

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ГАЛОФИЛЬНЫХ ВИБРИОНОВ ТРАДИЦИОННЫМ И МОЛЕКУЛЯРНО- БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

*ФКУЗ Ростовский-на-Дону
противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону*

Существенный вклад в распространение патогенных микроорганизмов вносят антропогенное загрязнение, развитие судоходства и перенос организмов в судовых балластных водах и осадках. Балластные воды следует рассматривать как техногенный резервуар микроорганизмов, в частности, галофильных вибрионов, которые способны вызывать инфекции человека и животных [Супотницкий М. В., 2012]. В настоящее время известно около 91 вида вибрионов, 12 из которых отнесены к патогенным для человека [Fournier J. M. et al., 2002]. В последней версии Руководства по систематической бактериологии Берджи полностью описано 44 вида рода *Vibrio*. Также важно, что эти вибрионы могут длительное время сохранять жизнеспособность при разных температурных условиях в воде, различной по своему физико-химическому и органному составу. Выраженный персистентный потенциал галлофилов повышает значимость проводимого в последние годы мониторинга за циркуляцией таких вибрионов в соленых и пресноводных объектах водной среды. Интенсивное международное судоходство в Ростовской области может способствовать завозу с балластными водами патогенных галофильных вибрионов, которые, помимо реально существующей угрозы загрязнения наших водоемов чужеродными водными микроорганизмами и патогенами, могут привести к вспышкам кишечных инфекций и нарушению эко-

логии водоемов. В связи с этим в июне-сентябре с 2011 года в Ростовском противочумном институте проводится исследование воды Азовского моря на присутствие патогенных для человека галофильных вибрионов.

Цель работы: выявление патогенных для человека вибрионов в балластной воде судов, прибывающих в международные порты Таганрога и Азова Ростовской области из-за рубежа, и сравнительная идентификация выделенных культур бактериологическим и масс-спектрометрическим методами.

Исследования балластных вод судов с целью обнаружения галофильных патогенных для человека вибрионов проводились с 2011 года по 2014 год, в период с мая по сентябрь. Отбор проб балластной воды проводился сотрудниками лаборатории санитарной охраны территорий ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора предложенными ими способами через специальные люки, смотровые крышки балластных емкостей, замерные отверстия балластных цистерн или при сбрасывании балластной воды в зависимости от конструкции судна [Водяницкая С. Ю. с соавт., 2014].

Исследование балластной воды проводили по схеме, регламентированной методическими указаниями [МУК 4.2.2218-07, МУК 4.2.1793-03], а также с использованием модифицированной электроинформационной среды (СЭДХ-М), предложенной для выделения холерных вибрионов, в которую добавляли 2 % NaCl. Вибрионы, не ферментирующие сахарозу, формируют на СЭДХ-М колонии цвета среды. Представители остальных патогенных видов образуют ярко-оранжевые колонии.

Идентификация выделенных культур проводилась традиционными микробиологическими методами, а также с помощью метода MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Bruker Daltonics (Германия) с программным обеспечением Biotyper и в отдельных случаях ПЦР-тестированием с использованием видоспецифичных праймеров. Учет результатов идентификации методом масс-спектрометрии проводили по шкале показателей Score в диапазоне от 0 до 3. Значения 2.300–3.000 указывают на высокую вероятность идентификации вида (+++), значения более 2.000–2.2999 указывают на надежную идентификацию рода бактерий и возможную идентификацию вида (++), значения 1.700–1.999 указывают на возможную идентификацию рода (+), менее 1.700 – на отсутствие надежной идентификации.

Патогенность обнаруженных парагемолитических вибрионов оценивали комплексным методом, включающим определение гемолитической активности в тесте Канагава (КР) на среде Вагатцума, способность к гидролизу мочевины (Ure) – на среде Кристенсена и ПЦР-тестирование основных детерминант вирулентности – генов термоста-

бильного прямого (TDH) и TDH – родственного (TRH) гемолизин.

В период с мая по сентябрь 2011–2013 года и май–июль 2014 года было исследовано 196 проб балластной воды судов, поступавших в порты Таганрога и Азова Ростовской области. Всего было выделено 84 штамма вибрионов разных видов, из них 9 видов – патогенных для человека, в частности: *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. damsela*, *V. harvei*, *V. furnissii* и *V. metchnikovii*. Также, помимо патогенных для человека галофильных вибрионов, было выделено еще 5 видов галофильных вибрионов, таких как: *V. navarrensis*, *V. anguillarum*, *V. rotiferianus*, *V. ponticus* и *V. brasiliensis*. В 2011 году было выделено 19 штаммов, в 2012 – 32 штамма, в 2013 – 21 штамм и в мае – июле 2014 – 12 штаммов галофильных вибрионов.

При идентификации выделенных культур возникли некоторые сложности с дифференциацией вибрионов традиционными бактериологическими методами следующих видов: *V. parahaemolyticus* и *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* и *V. harvei*. Кроме того, определенные трудности были связаны с дифференциацией бактерий других родственных видов, таких как *Aeromonas*, *Photobacterium* и *Citrobacter*. Это объясняется их большим фенотипическим сходством, вариабельностью признаков и, как следствие, относительной диагностической ценностью отдельных таксономических тестов. Поэтому для уточнения видовой принадлежности культур был использован метод MALDI-TOF масс-спектрометрии, который позволил быстро и эффективно идентифицировать выделенные культуры с высокими показателями Score от 2.153 до 2.473. Следует отметить, что идентификация видов *Vibrio* микробиологическими методами трудоемка и занимает 2–3 дня. Масс-спектрометрия – эффективный метод, позволяющий идентифицировать наиболее значимые в патологии человека виды *Vibrio* в течение нескольких минут. Видовая принадлежность близкородственных видов *V. parahaemolyticus* и *V. alginolyticus* была подтверждена и методом ПЦР с видоспецифичными праймерами генов металлопротеазы (коллагеназы) *vrrC* и *varC*. Для ПЦР-тестирования вибрионов других видов в дальнейшем необходимы подбор соответствующих праймеров и отработка условий амплификации.

В результате наших исследований из проб балластных вод было выделено 18 штаммов паразитических вибрионов, которые являются наиболее частым этиологическим агентом диарейных заболеваний, вызванных галофильными вибрионами. Большинство штаммов *V. parahaemolyticus* были выделены из балластных вод судов, прибывших из Турции и Украины. Выделенные паразитические вибрионы были Канагава-негативны и не ферментировали уреазу. В их геноме не обнаружены гены *tdh* и *trh*. В связи с этим все штаммы паразитических вибрионов, выделенные из

проб балластной воды, были оценены как авирулентные, что подтверждает литературные данные о редкости обнаружения в воде открытых водоемов вирулентных *V. parahaemolyticus*.

Исследования, проведенные нами, свидетельствуют о разнообразии видового состава вибрионов в пробах балластных вод судов «река-море», о целесообразности использования для их точной и быстрой идентификации метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. Весьма полезным для этих целей будет и метод ПЦР-тестирования с помощью видоспецифических праймеров.

УДК 579.843.1:579.61:616-078

Савельева Е. И.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТИПИЧНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В БИОВАРАХ ЭЛЬ ТОР

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Холера представляет угрозу для населения и национального здравоохранения многих стран мира, в том числе и России. Эпидемиологическая ситуация по холере в России определяется возможностью заносов этой инфекции из стран Африки, Юго-Восточной Азии, Американского континента (Гаити), а также ежегодной изоляцией холерных вибрионов O1 и реже – O139 серогрупп из объектов окружающей среды на многих территориях страны.

В результате эволюционных преобразований генома типичного токсигенного холерного вибриона Эль Тор – доминантного возбудителя седьмой пандемии холеры – в 90-е годы прошлого столетия появились его генетически измененные (гибридные) варианты, в геноме которых помимо эльторовских (*ctxB^{El}*, *rstR^{El}*, *rstC*) содержатся гены профага CTX^{Cl} - *ctxB^{Cl}* и *rstR^{Cl}* (Смирнова Н. И., Заднова С. П., Шашкова А. П., Кутырев В. В., 2011; Nair, G. V. 2002; Ansaruzzaman, M. 2004; Safa A. et al., 2010). К настоящему времени эти геноварианты Эль Тор, обладающие значительным по сравнению с типичным биоваром, эпидемическим потенциалом, стали доминирующими возбудителями эпидемий холеры в странах Африки, Азии, Америки (Safa A. et al., 2005; Grim C. J., Hasan N. A., Taviani E. et al., 2010). В Российской Федерации подобная эпидемия зарегистрирована в Республике Дагестан в 1994 и 1998 гг., возбудитель которой

в момент выделения был идентифицирован как *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor, Ogawa (*ctx*⁺), а в 2009 г. – как гибридный вариант биовара Эль Тор [Савельев В. Н., Савельева И. В., Бабенышев Б. В. и др., 2011].

В системе противохолерных мероприятий лабораторная диагностика занимает ключевое положение в плане постановки диагноза холеры у людей и обнаружения зараженности объектов окружающей среды. «Золотой стандарт», составляющий основу лабораторной диагностики холеры, изложен в действующих методических указаниях, и он включает два метода исследования – бактериологический (основной) и серологический, имеющий дополнительное значение, хотя в отдельных случаях является решающим для ретроспективной диагностики заболевания или вибрионоительства.

Мы изучили значения микробиологических тестов (морфологические, биохимические, серологические), рекомендуемые действующими МУК для идентификации культур, подозрительных на холерные вибрионы, и установили, что с их помощью возможно определять принадлежность выделенных культур к семейству Vibrionaceae, роду *Vibrio*, виду *Vibrio cholerae* O1 или O139 серогрупп, сероварам Ogawa, Inaba, Nikoshima как типичных токсигенных холерных вибрионов биовара Эль Тор, так и их генетически измененных (гибридных) вариантов.

Вместе с тем оказалось, что рутинные микробиологические тесты не во всех случаях могут быть использованы для дифференциации гибридных вариантов биовара Эль Тор и биовара классического холерного вибриона. Изучение 98 гибридных штаммов холерных вибрионов Эль Тор по фенотипическим свойствам, определяющим биовар, показало, что они подразделяются на: варианты с типичными фенотипическими свойствами биовара (40 штаммов, или 41,3 %) и варианты с атипичными по тому или иному фенотипическому признаку биовара (58 штаммов, или 48,7 %).

В настоящее время все большее значение в лабораторной диагностике холеры приобретают молекулярно-генетические методы исследования, в частности, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющий тестировать фрагменты ДНК ключевых генов патогенности типичного или гибридного варианта холерного вибриона в биоматериале больного или в объектах окружающей среды и охарактеризовать (идентифицировать) выделенный микроорганизм на уровне генома.

Наша разработка «Набор реагентов для выявления типичных токсигенных и гибридных вариантов биовара Эль Тор и генотипирования *Vibrio cholerae* O1 в биологическом и из объектов окружающей среды материале методом полимеразной цепной реакции (Гены *Vibrio cholerae* O1 вариант *ctxB*-*rstR*-*rstC*, РЭФ)» основана на детекции фрагментов ДНК ключевых генов патогенности, специфичных для биовара Эль Тор (*ctxB*^{El}, кодирующего биосинтез СТ-2; *rstR*^{El} (репрессор репликации фа-

говых частиц), *rstC* (антирепрессор *rstR*, генетический маркер биовара Эль Тор) и классического биовара (*ctxB*^{Cl}, кодирующего биосинтез СТ-1); *rstR*^{Cl} ((репрессор репликации фаговых частиц), т. е. тех генов, которые претерпели изменения в процессе эволюционных преобразований генома типичного холерного вибриона биовара Эль Тор. С помощью этого «Набора» впервые в России были обнаружены гибридные варианты биовара Эль Тор, явившиеся этиологическим фактором холеры Эль Тор в Дагестане в 1993–1994–1998 гг.

В свете вышеизложенного для дифференциации биоваров *Vibrio cholerae* O1 могут быть использованы детекция генов коровой и RSII области профага CTX^{Cl}_{phi} – *ctxB*^{Cl} и *rstR*^{Cl} (специфичные для классического биовара) и гены профага CTX^{El}_{phi} и сателлитного фага RSI – *ctxB*^{El}, *rstR*^{El} и *rstC* (специфичные для биовара Эль Тор). Детекция в геноме различных комбинаций фрагментов ДНК данных генов обоих биоваров дает основание отнести идентифицируемый штамм к генетически измененному (гибридному) варианту биовара Эль Тор. Штаммы холерного вибриона, геном которого содержит гены, специфичные для классического биовара, мы отнесли к генотипу I (*ctxB*^{Cl}, *rstR*^{Cl}), специфичные для типичного биовара Эль Тор – к генотипу II (*ctxB*^{El}, *rstR*^{El}, *rstC*), гибридные варианты биовара Эль Тор – к генотипам III (*ctxB*^{Cl}, *rstR*^{Cl}, *rstR*^{El}, *rstC*), IY (*ctxB*^{Cl}, *rstR*^{El}, *rstC*), Y (*ctxB*^{Cl}, *rstR*^{Cl}, *rstC*), YI (*ctxB*^{Cl}, *rstR*^{Cl}, *rstC*).

Традиционные микробиологические тесты (морфологические, биохимические, серологические, фаголизательность и т.д.), изложенные в действующих инструктивных документах, применимы для сокращенной и полной идентификации *Vibrio cholerae* O1. Биовар генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* O1 в половине случаев микробиологическими тестами не определяется.

УДК 577.212.3

Савченко С. С., Шпак И. М.,
Леденева М. Л., Бондарева О. С.,
Ткаченко Г. А., Лемасова Л. В.,
Абуева А. И., Антонов В. А.

**СБОРКА ГЕНОМА BURKHOLDERIA
PSEUDOMALLEI 110
НА ОСНОВЕ ДАННЫХ
МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО
СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

ФКУЗ Волгоградский
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Burkholderia pseudomallei является возбудителем особо опасного инфекционного заболевания

II группы патогенности – мелиоидоза, являющегося потенциальным агентом биотерроризма группы В. Морфологически это грамотрицательные не образующие спор палочки, подвижные, с полярно расположенными жгутиками. *B. pseudomallei* является факультативным анаэробом, хемоорганотроф, обладающий способностью окислять и ассимилировать в качестве единственного источника углерода и энергии различные моносахара, дисахариды и многоатомные спирты. В последнее время интерес исследователей к мелиоидозу значительно возрос, что объясняется появлением этой опасной инфекции на эндемичных территориях.

В настоящее время активно ведется изучение генома данного возбудителя как для фундаментальных исследований, таких как анализ организации и реорганизации генома, выявление факторов патогенности, так и в прикладных аспектах, касающихся разработки диагностических препаратов и совершенствования схем идентификации и молекулярного типирования *B. pseudomallei*.

На сегодняшний день основным способом получения полногеномных нуклеотидных последовательностей является массовое параллельное секвенирование. Этот метод основан на одновременном прочтении множества коротких фрагментов генома и последующем анализе огромных объемов полученных данных с целью восстановления исходной последовательности молекулы ДНК.

Основная сложность при сборке геномной последовательности заключается в большом объеме данных, генерируемых автоматическими секвенаторами, причем эти данные, как правило, содержат ошибки. Качество прочтения каждого отдельного нуклеотида выражается значением Q, логарифмически связанным с вероятностью его ложного распознавания. Еще одной проблемой сборки является сложность структуры исходного генома, а именно наличие в нем повторов и полиморфных последовательностей.

Объектом исследования служил геном штамма *B. pseudomallei* 110 из коллекционного центра живых культур ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Секвенирование проведено на базе Межинститутского Центра коллективного пользования «ГЕНОМ» ИМБ РАН с использованием системы GS Junior (454 ROCHE, Швейцария).

Результаты исследования были получены в формате SFF (Standard Flowgram Format). Для извлечения прочтений и оценки их характеристик использовали алгоритм с последовательным применением программ *sff_extract* и *FastQC* версии 0.10.1. В результате было установлено, что файл содержит 229772 фрагментов протяженностью от 48 до 1200 п.о. с GC составом на уровне 67%. Среднее качество прочтения анализируемого генома у 99,7% фрагментов оказалось в районе Q20 (в соответствии с кодировкой Sanger/Illumina 1.9), при этом качество на уровне Q30 было у 85,7% данных.

Что касается распределения значения Q, то для первых 400 п.н. большинства секвенированных последовательностей ДНК составило максимальное значение – Q40, снижаясь до уровня Q20 к 500-600 п.н. Качество следующих 300 п.н. составило Q15. В результате был сделан вывод о необходимости оптимизации имеющихся последовательностей для повышения качества последующего сборки.

Для получения такого набора данных, который бы содержал прочтения высокого качества с минимальной потерей объема информации, использовали программу *PRINSEQ*, задавая различные параметры обработки с последующей визуализацией результатов и оценкой качества прочтений в программе *FastQC*. Фильтрацию данных проводили по нескольким изменяемым параметрам: удаление последовательностей с 3' и 5' концов, диапазон длин последовательностей и среднее значение Q.

После оптимизации исходных данных была проведена сборка прочтений в контиги с последующим сравнением различных вариантов полученных ридов с помощью ассемблера *NEWBLER*. Сравнение и анализ данных статистики после сборки последовательностей показали, что вариант сборки данных, полученных после оптимизации с использованием программы *PRINSEQ* с исключением из дальнейшего анализа последовательностей, обладающих средним значением Q ниже 34, позволил уменьшить число контигов. Однако данный вариант оптимизации был исключен, так как размер наибольшего контига и средний размер контигов оказались существенно снижены. По тем же причинам исключены и другие варианты обработки с использованием жестких критериев фильтрации. Наилучшие результаты получены в результате оптимизации данных на уровне извлечения ридов с использованием программы *sff-extract* с параметром автоматической обрезки, обозначенным «-clip». Дальнейшая работа проводилась с контигами, собранными из набора прочтений, оптимизированного с помощью данного алгоритма.

В результате сборки было получено 638 контигов суммарной длиной 7300177 п.н., что соответствует десятикратному среднему покрытию генома *B. pseudomallei* 110. Средняя длина контига составила 11442 п.н. при значении N50 – 20379 п.н. и максимальном размере контига 128462 п.н. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости картирования контигов на референсный геном, исключая возможность *de novo* сборки.

После сборки генома штамма *B. pseudomallei* 110 провели сравнение полученной нуклеотидной последовательности с генетическими базами данных сети Интернет с использованием алгоритма *BLAST*. В результате данного этапа работы было убедительно показано, что секвенированный геном принадлежит *B. pseudomallei*. Кроме того, использование *BLAST* позволило выбрать наиболее

гомологичные геномы возбудителя мелиоидоза для последующего картирования.

Наилучшие результаты картирования контигов получены с использованием функции «move contigs» программы Mauve, анализ полученных данных также позволил определить границу между хромосомами исследуемой последовательности и разделить ее на два репликона, а также проанализировать контиги, не вошедшие в состав хромосом. Такие контиги представляют собой плазмиды, мобильные элементы и фрагменты геномов других штаммов *B. pseudomallei*.

Заключительным этапом нашей работы было аннотирование полученной сборки генома *in silico*, которое было выполнено с использованием онлайн ресурса RAST.

Таким образом, в результате работы получили нуклеотидные последовательности ДНК двух хромосом *B. pseudomallei* 110 с помощью анализа данных массового параллельного секвенирования. Проведение дополнительного секвенирования генома исследуемого штамма возбудителя мелиоидоза с целью доведения фактического покрытия минимум до двадцатикратного уровня позволит в дальнейшем провести *de novo* сборку и анализ особенностей структурной организации данного штамма.

УДК 616.98-078:579.841.93

**Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г.,
Костюченко М. В., Логвиненко О. В.,
Ракитина Е. Л.**

АДАПТИВНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ИММУННОМ СТАТУСЕ У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЁЗОМ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АЛЛЕРГИЗАЦИИ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Основу патогенеза некоторых инфекционных болезней составляет иммуноаллергическая перестройка, обуславливающая формирование клонов специфически сенсibilизированных лимфоцитов и антител.

Одной из таких инфекций является бруцеллез – зоонозная инфекционно-аллергическая болезнь, протекающая с преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой, нервной систем, склонная к рецидивам, обострениям и хронизации процесса.

Патогенетические и клинические особенности бруцеллезной инфекции взаимообусловлены рядом факторов. В острой стадии бруцеллеза наряду

с инфекционно-токсическими процессами начинают проявляться инфекционно-аллергические реакции. Аллергическая перестройка организма в этот период является, по-видимому, обязательным условием острого течения болезни. По мере нарастания сенсibilизации болезнь переходит в подострую и хроническую стадии.

Несмотря на длительную историю изучения бруцеллеза, вопросы обусловленности и взаимосвязи уровня сенсibilизации организма антигенами бруцелл с патофизиологическими изменениями в иммунном статусе у больных бруцеллезом остаются не до конца изученными. Вероятно, основной причиной, по которой данный иммунологический аспект патофизиологии бруцеллеза в достаточной мере не изучен, является дефицит объективных клинико-инструментальных подходов к количественной оценке степени гиперчувствительности к возбудителю бруцеллеза у больных.

Цель исследований – изучить особенности патофизиологических изменений в иммунном статусе у больных бруцеллезом с различной степенью специфической аллергизации.

Объектом исследования служил материал от 76 больных с установленным диагнозом «бруцеллез». Контрольную группу составили 16 человек, не имевших в анамнезе симптомов аллергии, не переболевших бруцеллезом и не вакцинированных против этой инфекции.

Аллергическую перестройку организма пациентов определяли, используя модифицированный нами метод оценки уровня специфической аллергизации, основанный на антигенной активации базофилов *in vitro* (выраженный в %) и проточно-цитометрическом анализе, который позволяет количественно учесть степень повышенной чувствительности организма к возбудителю бруцеллеза. В качестве специфического антигена использовали аллерген бруцеллезный жидкий (бруцеллин) производства ФГУП НПО «Микроген» (Россия). Для постановки аллергической пробы использовали набор для аллергодиагностики FlowCAST® Buhlmann laboratories, (Швейцария), учет реакции осуществляли с помощью проточного цитофлуориметра FACS Calibur (США).

Методом проточной цитометрии изучали клеточное звено иммунитета с использованием моноклональных антител Beckman Coulter (США). Определяли факторы естественной резистентности (фагоцитарную и функциональную активность нейтрофилов крови). В сыворотке крови исследовали уровень общих иммуноглобулинов А, М, G методом радиальной иммунной диффузии с моноспецифическими сыворотками (НПО «Микроген»), активность комплемента определяли по 50 % гемолизу эритроцитов барана, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) выявляли с помощью фотоколориметрии в реакции с ПЭГ-6000. Обеззараживание исследуемого материала от больных бруцеллезом людей осуществляли в соответствии с СП 1.3.1285 – 03

«Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)». Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием программы Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента, при уровне достоверности $P \geq 0,95$.

Больные бруцеллезом были рандомизированы на три группы. Первую группу составили 33 пациента с низкой степенью аллергизации – до 10 %. Вторую группу – 29 больных со средней степенью аллергизации от 10 % до 20 %. Третья группа в количестве 14 человек с высокой степенью специфической аллергизации – более 20 %.

Анализ проведенных исследований выявил у больных первой группы повышение относительного содержания Т-лимфоцитов – $82,9 \pm 1,16$ %, Т-хелперов – $55,6 \pm 0,94$ % и Т-цитотоксических – $43,6 \pm 0,88$ % по сравнению с контролем – $68,87 \pm 1,25$ %, $39,1 \pm 2,38$ %, $24,18 \pm 2,24$ % соответственно. На фоне низкой степени аллергизации выявлено снижение клеток, экспрессирующих CD16⁺+56⁺ рецепторы – $6,65 \pm 0,37$ %, В-лимфоцитов – $3,54 \pm 0,27$ %, иммунорегуляторного индекса (ИРИ) – $0,90 \pm 0,05$ у.е. по сравнению с контрольными значениями – $10,19 \pm 1,15$ %, $12,17 \pm 1,32$ %, $1,61 \pm 0,06$ у.е., соответственно. У больных бруцеллезом с низкой степенью специфической аллергизации установлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов – $50,0 \pm 1,2$ % - и повышение их функциональной активности – $18,42 \pm 0,97$ % в сравнении с контролем – $76,3 \pm 3,76$ %, $6,98 \pm 1,3$ % соответственно. Также отмечали повышение уровня IgA – $4,18 \pm 0,41$ мг/мл, IgG – $15,5 \pm 0,81$ мг/мл, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – $64,0 \pm 0,92$ ЕД и комплементарной активности сыворотки крови – $68,75 \pm 1,9$ ЕД по сравнению с контролем – $2,02 \pm 0,24$ мг/мл, $10,30 \pm 0,92$ мг/мл, $12,3 \pm 1,02$ ЕД и $30,23 \pm 2,25$ ЕД соответственно.

У второй группы обследуемых установлено повышение относительного содержания CD3⁺ – $83,4 \pm 0,87$ %, CD4⁺ – $55,0 \pm 0,71$ %, CD8⁺ лимфоцитов – $51,5 \pm 1,3$ %, ИРИ – $0,82 \pm 0,07$ у.е., снижение клеток с фенотипом CD16⁺+56⁺ – $5,58 \pm 0,42$ % и В-лимфоцитов – $4,32 \pm 0,47$ % по сравнению с данными контрольной группы – $68,87 \pm 1,25$ %, $39,1 \pm 2,38$ %, $24,18 \pm 2,24$ %, $1,61 \pm 0,06$ %, $10,19 \pm 1,15$ % и $12,17 \pm 1,32$ % соответственно. Выявлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов – $39,5 \pm 1,25$ % и усиление их функциональной активности – $20,0 \pm 0,70$ %, в сравнении со значениями контрольной группы – $76,3 \pm 3,76$ %, $6,98 \pm 1,3$ %. Значение уровней IgA – $3,76 \pm 0,04$ мг/мл, IgG – $15,65 \pm 0,30$ мг/мл, ЦИК – $67,2 \pm 0,96$ ЕД, комплементарной активности сыворотки крови – $69,5 \pm 1,4$ ЕД были повышены, по сравнению с контрольными показателями – $2,02 \pm 0,24$ мг/мл, $10,30 \pm 0,92$ мг/мл, $12,3 \pm 1,02$ ЕД, $30,23 \pm 2,25$ ЕД соответственно.

У больных с высокой степенью специфической

аллергизации выявлено снижение относительного содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD3⁺ – $51,0 \pm 1,15$ % и CD4⁺ – $25,8 \pm 1,7$ % рецепторы и тенденцию к увеличению уровня В-лимфоцитов – $12,5 \pm 1,2$ %, по сравнению с данными контроля – $68,87 \pm 1,25$ %, $39,1 \pm 2,38$ %, $12,17 \pm 1,32$ % соответственно. Отмечали снижение фагоцитарной – $50,5 \pm 2,3$ % и повышение функциональной активности нейтрофилов – $19,1 \pm 1,3$ %, по сравнению с контрольными показателями – $76,3 \pm 3,76$ % и $6,98 \pm 1,3$ % соответственно. Установлено повышение уровня IgA – $4,03 \pm 0,17$ мг/мл, IgG – $15,5 \pm 0,73$ мг/мл, ЦИК – $69,8 \pm 3,4$ ЕД, комплементарной активности сыворотки крови – $69,7 \pm 2,1$ ЕД, относительного содержания цитотоксических лимфоцитов – $39,6 \pm 0,24$ % и ИРИ – $2,0 \pm 0,86$ у.е., по сравнению с контролем – $2,02 \pm 0,24$ мг/мл, $10,30 \pm 0,92$ мг/мл, $12,3 \pm 1,02$ ЕД, $30,23 \pm 2,25$ ЕД, $24,18 \pm 2,24$ % и $1,61 \pm 0,06$ у.е. соответственно. Уровень клеток с фенотипом CD16⁺+56⁺ – $5,8 \pm 0,37$ % был снижен, в сравнении с данными контрольной группы – $10,19 \pm 1,15$ %.

Таким образом, проведенные исследования показали наличие взаимосвязи уровня специфической аллергизации и изменений в иммунном статусе у больных бруцеллезом. У обследованных с низкой и средней степенью специфической аллергизации преимущественно выражены адаптивно-приспособительные изменения, при этом установлено снижение количества В-лимфоцитов, натуральных киллеров и иммунорегуляторного индекса за счет активации синтеза Т-хелперов, наряду с ослаблением естественной резистентности. У больных с высоким уровнем сенсибилизации к возбудителю бруцеллеза преобладали патологические изменения в иммунном статусе, что выражалось в снижении общего количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, ЕК-клеток и фагоцитарной активности нейтрофилов.

УДК 616.9

**Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г.,
Костюченко М. В., Ракитина Е. Л.,
Логвиненко О. В.**

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Под естественной резистентностью (от лат. *resistio* – сопротивление) понимают устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней

среды. Она базируется на механизмах защиты, сформировавшихся в процессе эволюции и закрепленных генетическим кодом. Состояние естественной резистентности определяют неспецифические защитные факторы организма животных, связанные с их видовыми, индивидуальными и конституциональными особенностями. Защитную функцию крови обеспечивают также клеточные факторы – это прежде всего фагоцитоз, проявляющийся способностью клеток крови и лимфы (лейкоциты, ретикулярные клетки селезенки и костного мозга и др.) захватывать проникающие в тело животного инородные частицы, в том числе микроорганизмы, с последующим их перевариванием. Известно, что невосприимчивость организма (специфический иммунитет), создаваемая любой вакциной, лишь дополняет естественную резистентность.

Цель исследований – изучить взаимосвязь иммунопатологических изменений в иммунном статусе у лабораторных животных при различных дозах введения противобруцеллезной вакцины. В связи с поставленной целью исследовали иммунологические показатели крови белых мышей, которых рандомизировали на 2 группы. Первая группа в количестве (n=20) была иммунизирована подкожно вакцинным штаммом *B. abortus 19 VA* в дозе 0,1 мл – 10⁵ микробных клеток. Вторая группа животных в количестве (n=20) была иммунизирована в дозе 0,1 мл – 20⁵ микробных клеток. Взятие крови осуществляли на 21, 30, 45 и 60 сутки после иммунизации, по 5 животных в группах в каждый период исследования.

Оценка иммунного статуса включала исследование взаимосвязи в различные сроки исследования факторов естественной резистентности (фагоцитарная активность нейтрофилов крови, функциональная активность нейтрофилов крови, определение активности миелопероксидазы, катионных белков).

Полученные результаты обрабатывали статистически, применяя программы Microsoft Excel 2010 и Statistica 6.0. С учетом малой выборки (n<30) для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента при уровне достоверности P≥0,95.

Для выявления коррелятивной связи применяли метод ранговой корреляции Спирмена, с помощью которого оценивали тесноту связи между признаками, считая значения коэффициента, равные 0,3 и менее, показателями слабой тесноты связи; значения более 0,4, но менее 0,7 – показателями умеренной тесноты связи, а значения 0,7 и более – показателями высокой тесноты связи.

Нами был проведен корреляционный анализ с целью установления взаимосвязи влияния доз вакцинного штамма на показатели естественной резистентности. Так, на 21 сутки исследования выявили прямую пропорционально умеренную зависимость фагоцитарной активности нейтрофилов крови (r = 0,500), активности миелоперокси-

дазы (r = 0,500) в обеих экспериментальных группах. В ходе корреляционного анализа на данные сутки была установлена прямая пропорционально высокая зависимость функциональной активности нейтрофилов крови в исследуемых группах (r = 0,850). Отмечалась обратно пропорциональная зависимость активности катионных белков (r = 0,625) в группах сравнения.

Анализ данных корреляции на 30 сутки выявил прямую пропорционально слабую зависимость фагоцитарной активности нейтрофилов крови (r = 0,075), функциональной активности (r = 0,125), активности миелопероксидазы (r = 0,250) и катионных белков (r = 0,025) в обеих экспериментальных группах.

На 45-е сутки исследования выявлялись прямая пропорционально высокая зависимость функциональной активности нейтрофилов крови (r = 0,725) и активность катионных белков (r = 0,820) в обеих обследуемых группах. Также прослеживались слабая прямая пропорциональная зависимость активности миелопероксидазы (r = 0,225) и умеренная прямая пропорциональная зависимость фагоцитарной активности нейтрофилов крови (r = 0,325) в исследуемых группах.

На 60 сутки отмечали прямую пропорционально умеренную зависимость фагоцитарной и функциональной активности нейтрофилов крови (r = 0,425) и (r = 0,475) и прямую пропорционально высокую зависимость активности миелопероксидазы и катионных белков (r = 0,800) и (r = 0,825) в обеих экспериментальных группах.

Теснота связи факторов естественной резистентности между обеими группами прослеживалась во все сроки исследования. Наиболее сильная коррелятивная взаимосвязь отмечалась относительно функциональной активности нейтрофилов крови в группах сравнения, а также в отношении активности катионных белков. В ходе исследования выявлены умеренная взаимосвязь фагоцитарной активности нейтрофилов крови в экспериментальных группах и слабая взаимосвязь активности миелопероксидазы во все сроки исследования. Таким образом, проведенное исследование позволило получить принципиально новые данные влияния различных доз противобруцеллезной вакцины на иммунопатогенез бруцеллеза и их взаимосвязь с патологическими изменениями в иммунном статусе у лабораторных животных.

УДК 616.9

**Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г.,
Костюченко М. В., Ракитина Е. Л.,
Логвиненко О. В.**

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА
НА ИММУННЫЙ СТАТУС
БИОМОДЕЛЕЙ**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Одной из наиболее актуальных проблем на современном уровне развития медицины является проблема иммунологической толерантности к инфекциям. Основу для решения вопросов невосприимчивости организма к патогенам составляет специфическая профилактика – вакцинация.

Не существует ни одного патологического процесса, который возникал бы без повреждения клеток. Повреждение – нарушение структурной и функциональной организации клеток и межклеточного вещества тканей и органов, которое сопровождается нарушением их жизнедеятельности.

Целью работы явилось изучение влияния различных доз противобруцеллезной вакцины на иммунологические показатели у лабораторных животных.

Исследовали иммунологические показатели крови белых мышей, которых рандомизировали на 2 группы. Первая группа в количестве (n=20) была иммунизирована подкожно вакцинным штаммом *B. abortus 19 VA* в дозе 0,1 мл – 10⁵ микробных клеток. Вторая группа животных в количестве (n=20) была иммунизирована в дозе 0,1 мл – 20⁵ микробных клеток. Взятие крови осуществляли на 21, 30, 45 и 60 сутки после иммунизации, по 5 животных в группах в каждый период исследования.

Оценка иммунного статуса включала исследование факторов естественной резистентности (фагоцитарная активность нейтрофилов крови, функциональная активность нейтрофилов крови, определение активности миелопероксидазы, катионных белков). Для изучения фагоцитарной активности клеток периферической крови использовали тест, основанный на регистрации поглощения объектов нейтрофилами. Функциональную активность нейтрофилов (НСТ-тест) оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия. Активность миелопероксидазы и уровень лизосомальных катионных белков определяли цитохимическими методами с подсчетом цитохимического коэффициента. Полученные результаты обрабатывали статистически, с помощью программы Statistica 6.0

При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов крови мышей, иммунизированных подкожно вакцинным штаммом *B. abortus 19 VA* в дозе

0,1 мл – 20⁵ микробных клеток, на 21 сутки отмечалось повышение поглотительной активности клеток 58,67±2,33 %, по сравнению с этим показателем в первой группе – 57,50±2,28 %. В процессе формирования противобруцеллезного иммунитета на 30 и 45 сутки фагоцитоз у вакцинированных животных второй группы повышался (45,75±1,49 % и 45,00±3,42 %) относительно фагоцитарной активности нейтрофилов первой группы (41,80±1,16 % и 43,50±0,65 %). На 60 сутки отмечалось снижение фагоцитарной активности нейтрофилов крови во второй группе животных – 46,25±2,81%, по сравнению с первой группой животных, иммунизированных низкой дозой микробных клеток – 62,25±4,82 %.

Функциональная активность нейтрофилов крови на 21 и 30 сутки повышалась во второй группе иммунизированных животных (4,67±1,20 % и 2,00±0,41 %) относительно первой группы (2,75±0,63 % и 1,40±0,51 %). Статистически достоверное повышение было отмечено во второй группе на 60 сутки и составило 7,60±0,93 %, по сравнению с показателями иммунизированных животных первой группы – 7,0±1,73 %. На 45 сутки наблюдалось снижение функциональной активности нейтрофилов крови во второй группе животных (4,50±1,04 %), по сравнению с первой группой (5,20±0,97 %).

Анализ данных активности миелопероксидазы, в зависимости от дозы введения микробных клеток, установил увеличение данного цитохимического показателя во второй группе иммунизированных животных на 21, 45 и 60 сутки (1,25±0,16 %, 1,75±0,09 % и 1,23±0,11 % соответственно), по сравнению с группой иммунизированных животных в дозе 0,1 мл – 10⁵ микробных клеток (1,0±0,14 %, 1,48±0,21 % и 0,87±0,44 %).

При изучении динамики активности катионных белков в группах сравнения на 21, 30 и 45 сутки отмечалось снижение определяемого показателя во второй группе (0,40±0,05 %, 0,33±0,04 % и 0,32±0,03 % соответственно) относительно первой группы иммунизированных животных (0,47±0,23 %, 0,39±0,20 %, 0,39±0,21 %). Однако на 60 сутки выявлено повышение данного показателя 0,41±0,06 % во второй группе иммунизированных животных – 0,41±0,06 % относительно первой группы – 0,33±0,13 %.

Полученные нами данные указывают, что при иммунизации белых лабораторных мышей подкожно вакцинным штаммом *B. abortus 19 VA* в дозе 0,1 мл – 20⁵ микробных клеток, на 21, 30, и 45 сутки формирования вакцинального противобруцеллезного клеточного иммунитета, выявлено повышение фагоцитарной активности нейтрофилов крови, что можно связать с увеличением их функциональной активности. Нейтрофилы наряду с другими факторами специфической и неспецифической резистентности участвуют в элиминации агрессивного антигенного материала, поступающего извне. В нашем опыте отмечалось повышение активности

миелопероксидазы практически в течение всего исследования, что указывает на непосредственное воздействие данного цитохимического показателя на микроорганизмы, поглощенные нейтрофилом. При повреждении нейтрофилов высвобождаются неферментные катионные белки, способствующие разрушению поглощенных фагоцитами бактерий, то есть чем больше доза введения вакцинного штамма, тем большее повреждающее действие оказывается на клетку.

Все вышеперечисленные изменения могут являться следствием повреждающего влияния вакцинации на клетки с нарушением ее гомеостаза, которое вызывает изменения в иммунном статусе – в зависимости от вводимой дозы микробных клеток. Таким образом, полученные данные показывают, что с увеличением инфицирующей дозы возрастают патологические сдвиги показателей естественной резистентности по сравнению с группой мышей, иммунизированных в дозе 10^5 микробных клеток.

УДК 579.6

Слукин П. В., Родин В. Б., Детушева Е. В., Фурсова Н. К.

ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ХЛОРИДУ БЕНЗАЛКОНИЯ У КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI* ATCC 25922 В АГРЕГИРОВАННОМ И ДЕЗАГРЕГИРОВАННОМ СОСТОЯНИИ

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора,

п. Оболенск, Московская область

В последнее время во всем мире отмечается беспрецедентный рост устойчивости патогенных микроорганизмов к биоцидам (дезинфектантам, антисептикам и антибиотикам). Для выяснения механизмов этого явления наряду с изучением естественных штаммов изучаются и штаммы с искусственно сформированной устойчивостью. При этом практически все лабораторные исследования, в которых получены резистентные штаммы, проводились в жидкой культуре на планктонных клетках путём пересевов по возрастающему градиенту концентраций биоцидов (Langsrud et al., 2004). В этом случае формирование устойчивости происходит в основном за счёт селективного отбора изначально устойчивых мутантных клеток. Однако в естественных условиях микроорганизмы существуют, главным образом, в агрегированных формах, в виде колоний и биоплёнок (Bridier et al., 2011; Сироткин и др., 2007), в которых в ответ на действие биоцидов могут активизировать-

ся не только мутационные, но и дополнительные адаптационные механизмы защиты (эффлюкс, модификация клеточной стенки, увеличение экскреции внеклеточного полисахаридного матрикса и др.) (Pagedar et al., 2012). Это обуславливает возможность наличия в микробных агрегациях других, более многовариантных путей и закономерностей формирования устойчивости, приводящих в итоге к большей по сравнению с планктонными клетками устойчивости к антимикробным препаратам.

Целью нашей работы являлась сравнительная оценка процесса формирования устойчивости к биоциду у микробной ассоциации *Escherichia coli* в агрегированном состоянии и у её дезагрегированных (планктонных) клеток.

Материалы и методы. **Штаммы микроорганизмов.** В качестве тест-культуры использовали штамм *Escherichia coli* ATCC 25922, рекомендованный Американским Обществом по Микробиологии (American Society for Microbiology) для исследований лекарственной устойчивости. В качестве микробной агрегации использовали выросший на плотной питательной среде без биоцида газон тест-культуры.

Биоцид. В работе использован препарат хлорид бензалкония (БКХ) (Sigma-Aldrich, США), который относится к химическому классу четвертичных аммониевых соединений (ЧАС).

Формирование устойчивости к биоциду проводили при культивировании микробного агрегата штамма *E. coli* на плотной питательной среде ГРМА (Оболенск, Россия) с возрастающими концентрациями (200–3200 мг/л) биоцида БКХ. Перед началом эксперимента исходную бактериальную культуру разделили на четыре образца, которые обозначили как отдельные адаптационные линии. Культивирование трёх линий проводили в строго одинаковых условиях (температура, влажность, время). Четвёртый образец (контроль) культивировали в таких же условиях, но в отсутствие биоцида в питательной среде.

Оценка чувствительности к биоциду. Для оценки чувствительности микробного агрегата *E. coli* к БКХ на газон бактериальной культуры помещали диск из фильтровальной бумаги диаметром 5 мм (апликатор). После его намочения апликатор с закрепившимся на нём микробным агрегатом переносили на питательный агар с тестируемыми концентрациями биоцида. Подобное использование апликатора позволило стандартизовать посевную дозу анализируемого микробного агрегата и избежать значительной деформации его структуры.

Для оценки чувствительности к биоциду планктонных клеток микробный агрегат суспендировали в физрастворе. Полученную суспензию наносили микрокаплями (10 мкл) на питательный агар с тестируемыми концентрациями биоцида (метод двукратных серийных разведений на плотной питательной среде, МУК 4.2.1890-04). Количество

клеток *E. coli* в микрокапле и на аппликаторе было одинаковым и равным 10^7 КОЕ.

Чувствительность клеток *E. coli* к биоциду оценивали по минимальным подавляющим концентрациям (МПК). За МПК принимали минимальную концентрацию БКХ, при которой отсутствовал рост культуры вокруг аппликатора или на месте впитывания микрокапли.

Оценка чувствительности к антибиотикам. МПК антибиотиков амикацина, ампициллина, гентамицина, доксицилина, ломефлоксацина, меропенема, миноциклина, нетиллина, норфлоксацина, офлоксацина, стрептомицина, тетрациклина, тикарциллина, тикарциллина с клавулановой кислотой, хлорамфеникола, цефоперазона, цефотаксима и цефтазидима (HiMedia, Индия) определяли диско-диффузионным методом. Интерпретацию осуществляли в соответствии и рекомендациями EUCAST (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). Данные измерения диаметров зон подавления обрабатывали статистически, что позволяло отметить только достоверные изменения уровней чувствительности адаптированных вариантов *E. coli*.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel (2007).

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы изучена чувствительность микробного агрегата *E. coli* ATCC 25922 к препарату БКХ. Показано, что уровень МПК для микробного агрегата *E. coli* составляет 200 мг/л, а уровень МПК его планктонных клеток составляет 40 мг/л. Таким образом, микробный агрегат *E. coli*, по показателю МПК, был в 5 раз устойчивее, чем планктонные клетки. По-видимому, большая устойчивость исследуемого микробного агрегата обусловлена теми же факторами, что и устойчивость биопленки, а значит, его можно рассматривать как модель биопленки по показателю устойчивости к биоциду.

Получены три линии штамма *E. coli* ATCC 25922, пассированные в течение 132 суток (6 пассажей) на плотных питательных средах, содержащих возрастающие концентрации БКХ. В результате получены две адаптационные линии *E. coli* ATCC 25922_A2 и *E. coli* ATCC 25922_A3, МПК биоцида, доля которых (в агрегированном состоянии) равна 1600 мг/л, т. е. увеличилась в 8 раз по сравнению с МПК биоцида для исходной культуры. МПК биоцида для третьей адаптационной линии *E. coli* ATCC 25922_A1 составила 3200 мг/л, что в 16 раз превышает исходный уровень чувствительности.

МПК биоцида для планктонных (деагрегированных) клеток тех же трех адаптированных линий, определенные методом двукратных серийных разведений на плотной питательной среде, составили 320 мг/л для всех адаптированных линий, то есть увеличились в 8 раз. Причем показано, что для каждой из линий более высокий уровень устойчивости к биоциду характерен в состоянии агрегированных клеток (на аппликаторе) по сравнению

с таковым для дезагрегированных (планктонных) клеток. Так, для линии *E. coli* ATCC 25922_A1 данные значения различаются в 10 раз, для линии *E. coli* ATCC 25922_A2 – в 5 раз, для линии *E. coli* ATCC 25922_A3 – в 5 раз.

Таким образом, несмотря на одинаковые условия культивирования при селективном давлении биоцида хлорида бензалкония, три субпопуляции исходной культуры штамма *E. coli* ATCC 25922 дивергировали по признаку устойчивости к данному препарату, что выразилось в разных уровнях МПК БКХ как для агрегированных, так и для дезагрегированных (планктонных) клеток.

Сравнение чувствительности исходной и адаптированных к БКХ линий штамма *E. coli* ATCC 25922 к антибактериальным препаратам показало, что для линии *E. coli* ATCC 25922_A1 увеличилась чувствительность к ломефлоксацину, меропенему и офлоксацину и уменьшилась чувствительность к тикарциллину и хлорамфениколу; для линии *E. coli* ATCC 25922_A2 увеличилась чувствительность к гентамицину, доксициклину, ломефлоксацину, нетиллину, офлоксацину, стрептомицину, тетрациклину, цефоперазону, цефотаксиму и цефтазидиму; для линии *E. coli* ATCC 25922_A3 увеличилась чувствительность к ломефлоксацину и уменьшилась чувствительность к ампициллину, доксициклину, тикарциллину, тикарциллину с клавулановой кислотой и цефоперазону.

В заключение можно высказать предположение, что выявленные отличия в исследованных характеристиках линий *E. coli* ATCC 25922, адаптированных к повышенным концентрациям БКХ, на наш взгляд, связаны с тем, что в разных субпопуляциях бактерий были активированы различные механизмы адаптации к биоциду как к стресс-индуктору.

Выводы. При адаптации микробного агрегата штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 к возрастающим концентрациям бензалкония хлорида получены три линии с пониженной в разной степени чувствительностью к данному биоциду (от 8 до 16 раз) по сравнению с таковой у исходной культуры. Для каждой из адаптированных линий, равно как и для исходной культуры, более высокий уровень устойчивости к биоциду характерен в состоянии агрегированных клеток (на аппликаторе) по сравнению с таковым для дезагрегированных (планктонных) клеток. Показано, что снижение чувствительности к биоциду коррелирует с изменением чувствительности к некоторым антибиотикам, в разной степени для разных линий.

Предложенный метод изучения феномена формирования устойчивых субпопуляций бактерий, находящихся под селективным давлением биоцида, представляется перспективным, поскольку учитывает влияние фактора агрегированности бактериальных клеток и может рассматриваться как модель биопленки.

УДК 616.993.193.1-078

**Степанова К. Б., Швед Е. И., Чирко Ю. В.,
Даниленко О. Е., Сухарева К. Г.**

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ
ОСОБЕННОСТИ
ПЕРВИЧНО-ХРОНИЧЕСКОГО
ПРИБРЕТЕННОГО
ТОКСОПЛАЗМОЗА**

*ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора,
Тюмень*

Динамика заболеваемости токсоплазмозом в Тюменской области носит волнообразный характер. Показатели заболеваемости токсоплазмозом в разные годы широко варьировали: от 0,15 на 100 тыс. в 2005 г. – до 26,4 на 100 тыс. в 2002 г.

По итогам 2013 года, заболеваемость токсоплазмозом снизилась на 33 % по сравнению с 2012 г. В 2013 году всего зарегистрировано 156 случаев, показатель заболеваемости – 11,46 на 100 тыс. населения против 17,17 в 2012 году (231 сл.). Данный показатель превышает в несколько раз средний показатель заболеваемости по стране.

Наибольший удельный вес заболевших (98,7 %) приходится на взрослое население. Среди детского населения зарегистрировано два случая заболевания. Заболеваемость регистрировалась на восьми административных территориях области из 24. Из общего числа заболевших доля жителей г. Тюмени составила 80 %. Заболеваемость токсоплазмозом чаще регистрируется среди женщин (73 %). Преобладает возрастная группа от 18 до 29 лет, доля которой составляет 29 %.

Нами проведен анализ 156 случаев больных первично-хроническим токсоплазмозом (ХПТ). Все пациенты обратились в клинику ФБУН ТНИИКИП с жалобами на: длительный субфебрилитет (17 % случаев), проявления астеновегетативного синдрома в виде утомляемости, общей слабости и снижения работоспособности (39 % случаев). В 37 % наблюдений (18 человек) пациенты предъявляли жалобы на локальные головные боли в височной, теменной областях, у 7 человек отмечены диффузные головные боли. Суставной синдром регистрировался у 41 % (19 обследуемых), из них у 84 % больных боли локализовались в крупных суставах и у 16 % (3 человека) – в мелких суставах (кисти рук). Миалгический синдром отмечен у 6,5% пациентов. Также регистрировались различные аллергические реакции: заложенность носа, слезотечение, покраснение глаз, различная сыпь в 35 % наблюдений (16 человек). Высыпания у 5 человек протекали по типу острой крапивницы и у 2 пациентов – по типу Отека Квинке. Болевой синдром отмечался в 60 % наблюдений (28 человек). Боли локализовались в 28 % (13 человек) в правом подреберье и в 15 % (7 человек) – эпигастрии 15%, 18 человек (39

%) жаловались на чувство тяжести и дискомфорта в правом подреберье. Другие диспептические жалобы встречались гораздо реже: снижен аппетит у 6 человек (13 %), горечь во рту – у 5 человек (11 %), периодически возникающая тошнота – у 11 человек (24 %). Нарушение стула отмечал 21 больной, из них 11 реципиентов (24 %) предъявляли жалобы на разжиженный стул и 10 человек (22 %) – на запоры.

Снижение зрения отмечали 11 человек (24 %). Нарушения репродуктивной функции (невынашивание беременности, бесплодие) были зарегистрированы у трех женщин.

При объективном исследовании у всех пациентов регистрировалось удовлетворительное состояние. Бледность кожных покровов при ХПТ отмечена у 1 человека (2 %), легкая иктеричность и субиктеричность склер выявлена в 28 % (13 человек).

При объективном исследовании желудочно-кишечного тракта выявлены следующие изменения: обложенный язык – у 41 % реципиентов. При поверхностной пальпации болезненность в разных отделах живота при ХПТ выявлена в 67 % (31 человек), гепатомегалия выявлена у 22 % пациентов.

С целью исключения инфекционных и паразитарных болезней, имеющих сходную симптоматику, больным проводилось комплексное клинико-лабораторное обследование.

В качестве лабораторных тестов для диагностики токсоплазмоза использованы метод ИФА с количественным определением антител IgM и IgG и молекулярно-генетический метод (ПЦР).

При трактовке результатов ИФА использованы МУ 3.2.1173-02 «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний» и Инструкция по применению набора реагентов для ИФА. В наших исследованиях концентрация специфических антител составила от 80 до 1800 МЕ/мл, что позволяет оценить уровень концентрации антител к возбудителю токсоплазмоза как высокий. Больным с подтвержденным диагнозом проведено специфическое лечение, в результате которого получен клинический эффект.

Всем пациентам было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование. В общем анализе крови у пациентов ХПТ изменения уровня лейкоцитов не было отмечено, а эозинофилия до 8 клеток регистрировалась у 5 человек (12 %), анемия – у 22 % реципиентов, ускоренное СОЭ – у 12 человек (30 %). При исследовании биохимического состава крови при ХПТ выявлено увеличение следующих показателей: общий билирубин – в 20 % наблюдений (8 человек), АСТ – 4 %, АЛТ – 7 % наблюдений, холестерин – у 5 % (2 человека).

У 71 пациента было проведено исследование кала на наличие изменений качественного и количественного состава. При ХПТ отмечено уменьшение бифидобактерий и лактобактерий в 45 % (14 человек); повышение количества условно-патогенных бактерий – 51 % (16 человек) – эн-

терококки, 80 % (25 человек) – *E.coli* типичная, 13 % (4 человека) – *E.coli* лактозонегативная, 6 % (2 человека) – *Staphylococcus (St.)* сапрофитный, 26% (8 человек) – другие условно-патогенные бактерии; наличие патогенных бактерий имело место у 19% (6 человек) – *E.coli* гемолитическая, 29% (9 человек) – *St. aureus*, 3% (1 человек) – грибы рода *Candida*.

Таким образом, клиническая картина первично-хронического токсоплазмоза имеет полиморфный характер, что необходимо учитывать врачам всех специальностей при проведении дифференциальной диагностики с различными заболеваниями.

УДК 616.9:579:577.2

**Сухова М. А., Мокриевич А. Н.,
Павлов В. М.**

ВЛИЯНИЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS*

*ФБУН «Государственный
научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск*

Грамотрицательная внутриклеточная бактерия *Francisella tularensis* является возбудителем туляремии. Для выживания бактерии в клетках хозяина микроорганизм содержит группу ферментов супероксиддисмутаз, одним из которых является железозависимая супероксиддисмутаза (Fe-Sod). Fe-Sod позволяет *F. tularensis* не только избежать повреждений клетки свободными радикалами, которые образуются в процессе метаболизма бактерии, но и противостоять оксидным радикалам внешней среды.

В данной работе мы исследовали влияние активности Fe-Sod на размножение вакцинного штамма туляремийного микроба как в жидкой питательной среде, так и в макрофагах. Для снижения уровня синтеза Fe-Sod в процессе размножения бактерий была проведена замена природных кодонов в гене *sodB* на редко встречающиеся в геноме туляремийного микроба: стартового кодона ATG – на GTG, кодона TTA (кодирующего лейцин) – на редко встречающийся TTG, а также кодона CCA (кодирующего пролин) – на кодон CCC. Триплет CCC отсутствует у генов четырех белков *F. tularensis*, составляющих существенную часть суммарного клеточного белка.

Замену нуклеотидов в гене *sodB* на хромосоме *F. tularensis* 15 проводили методом аллельного обмена с использованием суицидной плазмиды

pGM5. В результате было получено три варианта штамма: *F. tularensis* 15/sodBI (замена в стартовом кодоне), *F. tularensis* 15/sodBII (замена в стартовом кодоне и в триплете, кодирующем лейцин), *F. tularensis* 15/sodBIII (замена в стартовом кодоне и в триплете, кодирующем пролин), – отличающихся последовательностью кодонов в гене *sodB*.

По данным нативного электрофореза, у бактерий *F. tularensis* в логарифмической фазе роста уровень экспрессируемой Fe-Sod снижался на 25–30 % у штамма *F. tularensis* 15/sodBI и на 40–50 % у штаммов *F. tularensis* 15/sodBII и *F. tularensis* 15/sodBIII, а в стационарной фазе роста уровень экспрессии был одинаков для всех вариантов. Это указывает на то, что в процессе деления бактерий концентрация фермента Fe-Sod в бактериях падает. На это же указывает и тот факт, что добавление в жидкую культуру туляремийного микроба, находящуюся в логарифмической фазе роста, перекиси водорода до концентрации 2,5 мМ, приводило к подавлению роста бактерий *F. tularensis* штаммов 15/sodBI, 15/sodBII, 15/sodBIII по сравнению с исходным вакцинным штаммом. Без перекиси водорода все изучаемые штаммы росли с одинаковой скоростью.

Интенсивность размножения штамма *F. tularensis* 15/sodBII в макрофагах была в два раза ниже по сравнению с *F. tularensis* 15, хотя его остаточная вирулентность не отличалась от вирулентности исходного штамма.

При воздействии перекиси водорода на полученные варианты штамма *F. tularensis* 15, помимо ингибирования роста, наблюдали повышенный синтез мРНК белка GroEL.

Полученные штаммы интересны для изучения влияния железозависимой супероксиддисмутазы на иммуногенность туляремийного микроба. Также на примере гена *sodB* нами подтверждена возможность снижения уровня экспрессии генов возбудителя туляремии путем замены природных кодонов на редко встречающиеся. Данный подход может быть использован для изучения роли других генов в иммунопатогенезе туляремийного микроба.

УДК 616.9:577.152.2:579

Тимофеев В. С., Мокриевич А. Н.,
Павлов В. М.

**РОЛЬ НУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН
В V ДОМЕНЕ 23S РНК *FRANCISELLA
TULARENSIS* В ФОРМИРОВАНИИ
РЕЗИСТЕНТНОСТИ
ТУЛЯРЕМИЙНОГО МИКРОБА
К ЭРИТРОМИЦИНУ**

ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора,
Оболенск

В данной работе мы представляем результаты изучения нуклеотидных замен в V домене 23S РНК *Francisella tularensis* у чувствительных и резистентных к эритромицину штаммов туляремиийного микроба. Показано, что у штаммов с природной устойчивостью к эритромицину наблюдается замена 2047-GGACAGA-2055 на 2047-GGAAAGA-2055.

Резистентность бактерий к эритромицину чаще всего связана со структурной модификацией мишени действия – 23S РНК компонента 50S субъединицы рибосом бактериальных клеток – посредством метилирования аденина в 23S-рибосомальной РНК под действием фермента метилазы, что препятствует сборке 50S субъединицы и приводит к нарушению связывания антибиотика с рибосомами.

В пределах вида *F. tularensis* выделяют четыре подвида: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*. Подвид *holarctica* включает в себя три биовара: *японика*, биовар I эритромицин-чувствительный (Ery^S) и биовар II эритромицин-резистентный (Ery^R). Таким образом, среди всего природного разнообразия штаммов *F. tularensis* только штаммы, относящиеся к биовару II голарктического подвида, обладают природной резистентностью к эритромицину. S. Biswas et al. (2008) путем сравнения нуклеотидной последовательности генов 23S РНК 7 штаммов туляремиийного микроба всех 4 подвидами обнаружили у единственного штамма с фенотипом Ery^R – *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS – замену А на С в 2052 положении и предположили, что именно она может служить причиной устойчивости данного штамма к эритромицину. В то же время I. Gestin et al. (2010), исследовавшие спонтанные мутанты 10 штаммов I биовара голарктического подвида с приобретенной устойчивостью к макролидам, обнаружили у них замены в 2057 (А на Т), 2058 (А на G и А на Т) и 2611 (С на Т) положениях гена 23S РНК, что поставило вопрос о роли этих замен в природной резистентности к эритромицину штаммов *F. tularensis* биовара II голарктического подвида.

Нами было проведено сравнение нуклеотидных последовательностей генов 23S РНК 10 штаммов

F. tularensis subsp. *holarctica* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ФБУН ГНЦ ПМБ («ГКПМ-Оболенск»), выделенных из природных очагов Краснодарского и Ставропольского краев и Калмыкии, 8 из которых имели фенотип Ery^R, а также последовательности генов 23S РНК всех штаммов *F. tularensis*, геномы которых представлены в базе данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/511>). Было установлено, что у всех исследованных штаммов с природной устойчивостью к эритромицину наблюдается замена 2047-GGACAGA-2055 на 2047-GGAAAGA-2055. Таким образом, нами подтверждено предположение S. Biswas с соавт. о замене А на С в положении, соответствующем 2052 нуклеотиду штамма *F. tularensis* LVS, как причине природной устойчивости туляремиийного микроба голарктического подвида к действию эритромицина.

УДК 577.1:579:616.9

Ульшина Д. В., Ковалев Д. А.,
Головнева С. И., Лямкин Г. И.

**РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА
ИДЕНТИФИКАЦИИ *BRUCELLA SPP.*
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ MALDI-TOF
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Бруцеллез – инфекционное, особо опасное зоонозное заболевание, которое характеризуется тяжелым, часто хроническим течением с инвалидизацией больных людей. В Российской Федерации ежегодно регистрируется до 400 случаев впервые выявленного бруцеллеза [Лямкин Г. И. с соавт., 2014].

Известно, что традиционные микробиологические методы идентификации бруцелл характеризуются относительной длительностью, трудоемкостью проведения анализа, необходимостью специальной подготовки персонала.

Одним из современных методов идентификации и дифференциации бактерий является времяпролетная масс-спектрометрия с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS), основанная на исследовании специфических белковых профилей отдельных микроорганизмов. Масс-спектрометрия является одним из наиболее интенсивно развивающихся методов анализа и установления строения индивидуальных органических соединений, синтетических, природных полимеров и их смесей.

При использовании метода масс-спектрометрии патогенные микроорганизмы, как правило, иден-

тифицируют путем сравнения полученного масс-спектра исследуемого образца с соответствующим масс-профилем из библиотеки референсных образцов [AmJ Clin Pathol, 2013]. Наиболее перспективным представляется применение MALDI-TOFMS для проведения предварительного экспресс-анализа подозрительных колоний, полученных при первичных бактериологических посевах из исследуемого материала, с целью точного определения рода возбудителя.

В литературных источниках описаны различные процедуры пробоподготовки и условия анализа, наиболее эффективные при проведении масс-спектрометрии образцов культур возбудителей особо опасных инфекций – чумы, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, холеры. Но, несмотря на широкие потенциальные возможности использования прямого белкового профилирования патогенных микроорганизмов, в настоящее время практически отсутствует соответствующая нормативно-методическая база, регламентирующая использование масс-спектрометрии для идентификации и дифференциации возбудителей особо опасных инфекционных болезней.

В связи с изложенным представляется актуальной задача разработки эффективного стандартизованного алгоритма идентификации возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOFMS.

Цель работы заключалась в поиске и отборе родоспецифичных маркерных фрагментов на характеристичных масс-спектрах штаммов бруцелл и разработке алгоритма идентификации возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOFMS.

Обеззараживание и подготовку проб культур возбудителя бруцеллеза проводили по методике, описанной ранее Lista et al. [Lista F., 2011], в которую в ходе исследования были внесены незначительные модификации.

Для исследования использовали 39 штаммов бруцелл пяти видов (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*) из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, 13 из которых являются референтными штаммами. Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (BrukerDaltonics, США) при следующих параметрах: частота лазера 60 Гц, интенсивность лазера 10 – 50 %, 110 нсPIE, напряжение 1 источника ионов 19,4 kV, 2 – 17,3 kV, напряжение линзы 8 kV, напряжение линейного детектора 2,500 kV, диапазон масс 2000–20000 Да. Суммарный масс-спектр генерировали из 20 случайно выбранных позиций каждой капли мишени (всего по 4000 выстрелов лазера). Перед каждой серией анализов проводили внутреннюю калибровку с использованием бактериального тест-стандарта MBT (BrukerDaltonics, США). Формирование

масс-спектров проводили в программах Bruker Daltonicsflex Control v.3.3.64, предварительный анализ спектров – flexAnalysis v 3.3.65. Визуализацию и анализ полученных масс-спектров проводили в программе mMass v 5.5.0 [http://www.mmass.org/].

Нами были получены 859 масс-спектров для 39 исследуемых штаммов бруцелл. Из полученной коллекции были отобраны репрезентативные масс-спектры для каждого штамма с целью дальнейшего включения в проект электронной базы данных в среде программы MALDI Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, США).

Сравнительный анализ пиков на полученных масс-спектрах позволил выявить набор родоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000–20000 Да. На всех изученных спектрах установлено наличие 12 идентичных сигналов, имеющих следующие значения m/z (± 3 Da): 2422, 2581, 3023, 3336, 3523, 3754, 4542, 5170, 6672, 7048, 9080, 16068.

На основании экспериментальных данных было сформулировано предположение о том, что наличие совокупности указанных 12 родоспецифичных фрагментов на масс-спектре, полученном в установленных условиях, может свидетельствовать о присутствии в анализируемом образце возбудителя бруцеллеза. При этом следует отметить важность контроля основных характеристик пиков анализируемых фрагментов в масс-спектре, что связано с риском получения сигналов с низкой интенсивностью и разрешением в целевой области, например вследствие контаминации образца. Рекомендуются значения характеристик для маркерных фрагментов: абсолютная интенсивность $I > 500$; разрешение $R > 150$.

Нами разработан алгоритм идентификации возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOF MS, основанный на выявлении 12 родоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000–20000 Да. Предложенный алгоритм включает 8 этапов: получение колоний возбудителя на агаре Альбими → обеззараживание образца 95 % этиловым спиртом с последующей инкубацией при температуре 30°C в течение 90 мин. → получение масс-спектров на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, США) → формирование масс-спектров в программе Bruker Daltonicsflex Control v 3.3.64 → визуализация и анализ полученных масс-спектров в программе mMass v 5.5.0 (или аналогичной) → анализ совокупности пиков на полученных масс-спектрах с целью выявления 12 родоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000–20000 Да → анализ характеристик пиков выявленных родоспецифичных фрагментов на масс-спектрах по значениям интенсивности (I) и разрешения (R) → заключение о принадлежности исследуемого микроорганизма к роду *Brucella*.

IV. НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

УДК 579.61:615.371:60

Абзаева Н. В., Зуенко А. А., Фисун А. А.,
Гостищева С. Е., Будыка Д. А.,
Иванова Г. Ф.

ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ СО СНИЖЕННЫМ ЧИСЛОМ ДОЗ ПУТЕМ ОПТИМИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЭТАПОВ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Технологический цикл производства препарата вакцины чумной живой состоит из последовательных регламентированных стадий. Несмотря на многолетнее подтверждение эффективности производственных этапов, представляется возможным модернизация производственного процесса в направлении оптимизации определенных ключевых моментов.

В ранее выполненной НИР нами была разработана и внедрена вакцина с уменьшенным количеством доз в ампуле за счет понижения концентрации с $50-100 \times 10^9$ до $10-40 \times 10^9$ микробных клеток в мл с одновременным двукратным уменьшением объема. При этом достигается более адекватное соотношение действующих компонентов стабилизатора с количеством взвешенных в нем клеток. Для увеличения количества выращенной биомассы смыв с АКМ-Ш проводят двукратно, получая при этом две бутылки с вакцинной суспензией. Ранее уменьшение концентрации суспензии в ампуле достигалось на этапе сведения, когда после соединения содержимого двух полученных бутылок отбирали часть суспензии и разбавляли ее стабилизатором до требуемой. Учитывая то, что концентрации клеток в смывных бутылках различаются в несколько раз и составляют $100-150 \times 10^9$ м.к./мл для первой бутылки и $20-40 \times 10^9$ м.к./мл для второй, представляется возможным существенно упростить процесс, исключив момент сведения двух бутылок в одну и разведения биомассы средой высушивания. Так как параметры второй смывной бутылки количественно соответствуют необходимым для получения вакцины со сниженным числом доз, очевидной становится целесообразность приготовить препарат вакцины со сниженным количеством доз непосредственно из второй бутылки, минуя этап сведения и последующее дополнительное разведение суспензии стабилизатором.

Как было указано ранее, при смыве биомассы с АКМ-Ш последовательно используются две бутылки со средой высушивания. Полученные суспензии значительно отличаются по показателям концентрации, а значит, и по соотношению количества смывных микробных клеток, взвешенных в стабилизаторе, а также продуктов метаболизма, непременно попадающих в смывный материал. Согласно промышленному регламенту, полученная после смыва культура подвергается синхронизации – выдерживанию при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ 48 ч, в течение которого происходит накопление клеток, находящихся в стационарной фазе роста, как наиболее устойчивых. При этом условия синхронизации бактериальной суспензии существенно различаются из-за разницы показателей густоты микробной взвеси в бутылках № 1 и № 2, а также, очевидно, вследствие различий в содержании в них продуктов жизнедеятельности клеток вакцинного штамма.

Учитывая вышеизложенное, нами были получены три экспериментальные серии чумной вакцины из второго смыва микробной массы АКМ-Ш. Контроль качества полученных серий проводился в сравнении с производственными сериями из одного АКМ-Ш по основным регламентированным показателям: оптическая концентрация, жизнеспособность, термостабильность, потеря в массе при высушивании.

Анализ полученных данных показал, что, как и предполагалось, экспериментальные серии вакцины соответствовали регламентированным нормам. Вместе с тем исходные данные по жизнеспособности были существенно выше, чем у производственных серий из одного АКМ-Ш – $38,1-41,5\%$ в экспериментальных сериях против $28,7-33,2\%$ – в коммерческих. Что касается термостабильности, то ее величина соответствовала регламентированным нормам (не ниже 4 сут) для всех серий – 9–11 сут, хотя в экспериментальных образцах встречались и более высокие данные (19,4 сут для серии 2 научной). Потеря в массе при высушивании (остаточная влажность препарата после лиофилизации) также не выходила за границы нормы, при этом в экспериментальных сериях она не превышала $1,5\%$ (производственные – $2,0-2,5\%$), что вполне закономерно для препарата со сниженным объемом в ампуле.

В ранее проведенных исследованиях нами была показана целесообразность подвергать полуфабрикат вакцины с высоким исходным показателем жизнеспособности воздействию экстремальной температуры $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч для выбраковки недостаточно жизнеспособных микробных клеток с целью последующей стабилиза-

ции показателя жизнеспособности в течение срока хранения. Так как вакцина второго смыва обладала показателями, рекомендуемыми для дальнейшей закалки, то мы подвергли ее полуфабрикат воздействию повышенной температуры, контролируя жизнеспособность в различные временные отрезки. Как и ранее, анализ полученных данных показал, что 24 ч выдерживания являются оптимальным сроком для стабилизации свойств препарата. Так, исходная жизнеспособность серии 2 научной составляла $41,5 \pm 3,0$ %. Через 12 и 24 ч хранения при повышенной температуре произошла отбраковка ослабленных микроорганизмов и соответствующее уменьшение показателя до $37,6 \pm 1,3$ % и $37,2 \pm 0,9$ %. Через 48 часов жизнеспособность снизилась до $25,8 \pm 4,1$ %, что приближается к границе нормы в 25 % и является нежелательным.

Помимо жизнеспособности, важнейшим свойством чумной вакцины является ее иммуногенность. Мы изучили данный показатель для экспериментальных серий в сравнении с соответствующими производственными как на белых нелинейных мышах, так и на морских свинках. Показатель ED_{50} рассчитывался в живых микробных клетках (ж.м.к.) и для всех изученных серий не превышал допустимых пределов. Если сравнивать экспериментальные серии с соответствующими им производственными, то данные для белых мышей были $8-11 \times 10^3$ ж.м.к., а для морских свинок – $8-9 \times 10^3$ ж.м.к., при этом достоверных различий не наблюдалось.

Таким образом, вакцина, полученная из биомассы второго смыва, по показателям качества сопоставима с производственной, а по некоторым параметрам даже превосходит ее. Полученные данные позволяют рекомендовать получение вакцины со сниженным количеством доз из биомассы второго смыва. При этом значительно упрощаются некоторые этапы регламентированной биотехнологии, что предполагает внесение изменений в нормативную документацию.

УДК 57.083:591.111.8

**Барыбин А. С.¹, Демин А. М.²,
Собенин В. М.¹, Григорьева Ю. В.³,
Мальчиков И. А.²**

БИОКОНЬЮГАЦИЯ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК С АНТИТЕЛАМИ

¹ФБУН «Екатеринбургский НИИ
вирусных инфекций» Роспотребнадзора,
²Институт органического синтеза УрО РАН,
³ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ
Екатеринбург

Благодаря фотостабильности, широким адсорбционным и узким эмиссионным спектрам во-

дорастворимые квантовые точки (КТ) в настоящее время стали широко применяться в качестве флуоресцентных меток при различных биомедицинских исследованиях, в том числе для визуализации биологических объектов (вирусов, клеточных органелл, клеток, тканей), в проточной цитометрии, для исследования пространственного распределения биомолекул с помощью конфокальной микроскопии и т. д. Флуорофоры имеют отрицательные эффекты фотообесцвечивания и перекрытия спектров, что могло повлиять на эффективность выявления антигенов вирусов. Учитывая недостатки применения флуоресцентных меток, коллоидные полупроводниковые КТ исследовали в данной работе для оценки потенциала метки вирусных частиц КТ, конъюгированных гомологичными антителами.

Цель исследования: возможность использования конъюгированных с антителами КТ для проведения люминесцентной экспресс-диагностики вируса простого герпеса человека.

Материал и методы. Использовали КТ InP/ZnS , с максимумом флуоресценции 565 нм, полученные из ООО НТИЦ «Нанотех-ДУБНА». Исходный раствор КТ (2 мкМ) в боратном буфере (50 мМ, pH 8,3) встряхивали на вортексе, разводили в 50 мкл боратного буфера (pH 8,3), снова встряхивали и затем вносили в культуральную среду до конечной концентрации 20 нМ. Полученные растворы имели в спектре флуоресценции пик, максимум которого соответствовал длине волны 486 нм, при возбуждении светом с длиной волны 355 нм. Размер большинства коллоидных частиц составлял менее 10 нм. При этом в небольшом количестве присутствовали частицы размером 30–40 нм. Исходный раствор наночастиц содержал около 10^{16} наночастиц в 1 мл раствора. Перед выделением иммуноглобулиновой фракции смесь иммунных сывороток, полученных от больных с лабораторно подтвержденным ИФА диагнозом ВПГ (титр $IgG \geq 1:1280$) (положительный образец в качественной ПЦР ЭФ-детекции в агарозном геле), обрабатывали суспензией каолина, прогревали при 56 °С в течение 30 мин. Иммуноглобулины осаждали с помощью сульфата аммония, добавляя к сыворотке насыщенный раствор соли в соотношении 2:1. Осадок отделяли центрифугированием, растворяли в дистиллированной воде и повторяли процедуру осаждения 4 раза, после чего соль удаляли диализом. IgG разделяли с помощью ионообменной хроматографии на колонках с ДЭАЭ-сефадексом, изменяя ионную силу элюента. В качестве элюента использовали смесь этилендиамида и уксусной кислоты с pH 7,0, с ионной силой 0,1; регенерирующий сорбент – натрий-ацетатный буфер pH 4,0, с ионной силой 0,1. Липопротеиды удаляли 5% раствором твина-80 в ацетатном буфере. Перед лиофилизацией концентрацию IgG доводили до 30 г/л. Для специфической очистки IgG десорбировали с иммобилизованным протеином А при помощи глицин-солянокислого буфера

с рН 3,0, а также электрофоретически. Градиентом рН удалось десорбировать IgG 1 и 2 с протеин-А-сефарозы – с 90% и 95% чистотой соответственно. К 2,5 мл Трис-НСl раствора, содержащего 1 мг КТ при облучении УЗ на УЗ-бане, добавляли 2,5 мл Трис-НСl раствора, содержащего 10 мкг IgG и 5 мг 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride EDC в качестве конденсирующего агента. Облучение УЗ продолжали 10 мин, после чего реакционную массу помещали в холод и выдерживали 24 ч при температуре 4 °С.

Перед маркированием белков КТ проводили диализ раствора белка против карбонат-бикарбонатного буфера. КТ растворяли в 0,1 М растворе Na₂HPO₄ и по каплям добавляли к раствору белка при постоянном помешивании на магнитной мешалке. Процесс конъюгирования продолжался 18 час при 4 °С на свету. После окончания процесса избыток КТ удаляли гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-200.

Клеточные культуры. При работе с конъюгатами (КТ+антитело) использовались перевиваемые клетки почек обезьяны (Vero) из коллекции клеточных культур Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций. Культуры клеток выращивали в виде трехдневного монослоя на среде 199 производства ГУ НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН. Перевиваемые клетки культивировали на покровных стеклах (22x22 мм) в питательной среде RPMJ, содержащей глютамин и 10% сыворотку крупного рогатого скота, при 37 °С. Концентрация суспензии составляла 100000 клеток / мл.

Вирусы. Был использован эталонный штамм Л2 вируса простого герпеса человека (ВПГ), полученный из лаборатории иммунологии ФГБУН институт вирусологии им. Д. И. Ивановского МЗ РФ; его пассировали на перевиваемых клетках Vero. В работе применяли вирусосодержащую жидкость с инфекционным титром 4,5 lg ЦПД₅₀/0,2 мл.

После формирования монослоя клеток Vero на покровных стеклах (через 24 часа) клетки заражали ВПГ в объеме 0,1 мл в дозе, равной 0,1 ТЦД₅₀. Затем вносили среду 199 и инкубировали в термостате при 37 °С. Конъюгированные с антителами КТ вносили в культуры клеток через 60 мин. после адсорбции вируса на клетки. Покровные стекла вынимали из среды, промывали в проточной воде для удаления избыточных и не связавшихся с вирусом КТ. Регистрация флуоресценции приготовленных образцов проводилась на оптическом люминесцентном микроскопе Leica 2500M DM. Флуоресценцию регистрировали в зеленой спектральной области (500–560 нм).

Результаты и обсуждение. При просмотре стекол с клеточными культурами Vero или ФЛЭЧ, зараженных ВПГ и окрашенных комплексами антитело+КТ, было отчетливо видно яркое свечение в цитоплазме клеток на 2-е сутки. Количество пораженных клеток находилось в пределах 10–15%. К 3-им суткам свечение охватывало ядра поражен-

ных вирусом клеток. В дальнейшие сроки наблюдения все клетки были уже разрушены, сморщены. Яркое свечение охватывало все их содержимое. При этом количество пораженных клеток в исследуемых препаратах составляло 60–75 %.

В образцах с этими же клеточными культурами, зараженными ВПГ, но окрашенных стандартным коммерческим препаратом – флуоресцирующим иммуноглобулином, также было видно наблюдаемое свечение в цитоплазме клеток на 2-е сутки. Можно было подсчитать количество пораженных клеток, оно находилось в пределах 5–10 %. К третьим суткам слабое свечение охватывало ядра разрушенных вирусом клеток. Количество пораженных клеток в исследуемых препаратах составляло примерно 50–65 %. В контрольных образцах специфического свечения не наблюдали. При контроле специфики (покраска клеточных культур, инфицированных ВПГ, конъюгатами из противогриппозных антител и КТ) также не выявили специфического свечения.

Выводы. Проведенная диагностика выявления наличия антигенов ВПГ при окрашивании зараженных клеточных культур комплексами антитело+КТ показывала отчетливо различимое яркое свечение в цитоплазме и ядрах клеток уже на ранних сроках заражения, давала возможность подсчитать количество пораженных клеток по специфическому свечению, не уступала по чувствительности флуоресцирующим иммуноглобулинам.

УДК 663.15

**Волох О. А., Комиссаров А. В.,
Уваров М. Н., Самохвалова Ю. И.,
Авдеева Н. Г., Никифоров А. К.**

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ FRANCISELLA TULARENSIS МЕТОДОМ ТАНГЕНЦИАЛЬНОЙ МИКРОФИЛЬТРАЦИИ

*ФКУЗ Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора,
Саратов*

В настоящее время иммунизация является самым надежным способом профилактики туляремии. В 2011 году в Российской Федерации против туляремии вакцинировано 317953 человека и ревакцинировано 1294433 человека. Туляремийная живая сухая вакцина включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям, предусматривающим проведение вакцинации для населения, проживающего на энзоотических по туляремии территориях, а также прибывающих на эти территории лиц, выполняющих ряд работ.

Основным компонентом вакцины туляремийной живой сухой являются клетки туляремийного микроба вакцинного штамма 15 НИИЭГ. При получении вакцины возникает необходимость в концентрировании микробной культуры *Francisella tularensis* после проведения процесса ее выращивания. Нами для выполнения этой цели апробирован метод микрофльтрации в проточном (тангенциальном) потоке.

Культуру *F. tularensis* вакцинного штамма 15 НИИЭГ выращивали методом глубинного культивирования на жидкой питательной среде. После окончания процесса культивирования нативная культура *F. tularensis* вакцинного штамма 15 НИИЭГ имела следующие характеристики: рН=7,0±0,1, концентрация микробных клеток (по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО мутности 42-28-85-П (10 МЕ) ФГБУ НЦЭСМП Минздравсоцразвития России, эквивалентной концентрации 5×10⁹ м.к./мл) – 21±0,5 млрд. кл. мл⁻¹, коэффициент жизнеспособности – 62±0,5 %, посторонняя микрофлора отсутствует. Далее полученную микробную суспензию *F. tularensis* подвергали тангенциальной микрофльтрации на ультра-микрофльтрационной установке «Вива-флоу», через мембраны с размером пор 0,2 мкм, до сокращения объема микробного осадка в четыре раза. При необходимости добавляли в концентрат стерильный физиологический раствор до восстановления исходного объема нативной культуры и повторяли процесс концентрирования. Полученный концентрат микробных клеток имел следующие характеристики: рН=7,2±0,1, концентрация микробных клеток (по отраслевому стандарту мутности ФГБУ НЦЭСМП) – 80±0,1 млрд. кл. мл⁻¹, коэффициент жизнеспособности – 55±0,1 %, посторонняя микрофлора отсутствует. Контроль специфической стерильности фильтрата свидетельствовал об отсутствии в нем туляремийного микроба, что говорит о правильном подборе размера пор мембран.

В полученном концентрате не происходило ухудшения характеристик (в сравнении с нативной культурой *F. tularensis* вакцинного штамма 15 НИИЭГ после ее глубинного культивирования). В частности, рН и коэффициент жизнеспособности оставались на прежнем уровне, и не происходило контаминации посторонней микрофлорой. Основываясь на этом, можно утверждать, что полученный концентрат пригоден для получения живой туляремийной вакцины.

Необходимо отметить, что по результатам проведенной работы получено решение о выдаче патента РФ на изобретение «Способ получения концентрата микробных клеток для получения живой туляремийной вакцины» (приоритет от 25.06.2013 г.).

УДК: 616.9:577

Дикова С. П., Янович С. Я.* , Ефременко Д. В., Кальной С. М., Куличенко А. Н.

ВАРИАНТЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЖИДКОСТНЫХ ЯЧЕЕК ДЛЯ МИКРОГРАВИМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА АНТИГЕНОВ И РАСТВОРОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь
*ЗАО «ЭТНА»,
Москва*

Достижения современной фундаментальной науки в исследованиях физико-химических механизмов молекулярной динамики белок-белковых взаимодействий и особенно функций сигнальных систем открывают новые возможности конструирования биосенсоров (Грибов В. Д., 1999; Терентьев А. А. и др., 2009; Little A. E. F., 2008; Greving A. et al., 2013), в частности – пьезоэлектрических (микрोगравиметрических), развитие микро- и нанотехнологий которых вносит значительный вклад в совершенствование средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней (Чиркова Э. Н., 1999; Пат. РФ № 2510830; Pat US № 7542140, 2009).

Жидкостная ячейка (ЖЯ) относится к биомедицинским техническим устройствам для микрогравиметрического анализа жидкостей и детекции антигенов возбудителей особо опасных инфекционных (ООИ) болезней, находящихся в жидкой среде. ЖЯ функционирует в блоке с векторным анализатором цепей (CPNA-330, производства ЗАО «ЭТНА», Москва, или аналогичного прибора), обеспечивающим компьютеризированную регистрацию изменений частоты и динамического сопротивления пьезоэлектрического биосенсора, работающего в проточно-инжекционном режиме, в зависимости от массовой нагрузки на сенсорной поверхности пластины кварцевого резонатора. Известный аналог ЖЯ QFM 401 (quartz flow manual) шведской фирмы «Q-Sense» (Stockholm, Sweden, <http://www.q-sense.com/products/q-sense-e4>), несмотря на многие достоинства, имеет существенный недостаток, заключающийся в отсутствии возможности использования в его контрольной камере энергии гравитации и постоянного электрического поля.

Разработанные и изготовленные нами модифицированные ЖЯ предназначены для анализа проб образцов в жидкой фазе с использованием в качестве детектора кварцевого (Ат-срез) иммуносенсора для измерения величины нагрузки массы на сенсорном слое за счет антигена или иммуногло-

булинов, оцениваемой по сдвигу частоты с помощью векторного анализатора цепей или аналогичного анализатора. Устройство может быть использовано для индикации бактериальных антигенов в специализированных противоэпидемических бригадах, в условиях чрезвычайных ситуаций, а также в научно-исследовательской работе.

Целью данной работы явилось обеспечение максимальной эффективности детекции бактериальных антигенов или наличия иммуноглобулинов, находящихся в жидкой фазе, с помощью микрогравиметрического анализа за счет оптимизации условий подачи исследуемого образца к сенсорной поверхности кварцевой пластины, воздействия энергией гравитационного поля, а также постоянного и/или пульсирующего электрического поля.

Особенности проектирования ЖЯ заключались в конструктивных модификациях её вариантов, базовая модель которых состоит из корпуса с размещенной в нем пластиной кварцевого резонатора (кристалл), прижимаемой винтовой гайкой через крышку с тремя каналами, продолжающимися в виде металлических капилляров с внутренним диаметром 1,2 мм. С противоположной стороны кварцевой пластины (снизу) установлены подпружинивающие контакты с токоотводами. Контрольная камера, образуемая функциональной поверхностью пластины и крышкой объемом 25 мкл, с открывающимися в ней каналами, герметизирована за счет установки уплотнительных прокладок из фторуглеродистого каучука (viton), а корпус, крышка и основание изготовлены из диэлектрической пластмассы – фторопласта (поливинилиденфторид (ПВДФ)).

Наряду с вышеприведенным описанием ЖЯ конструктивные модификации других вариантов заключались в изготовлении на её крышке цилиндрической емкости объемом 1,2 мл с семью каналами, шесть из которых диаметром 1,5 мм равномерно расположены по окружности крышки. Центральный канал в виде металлического капилляра предназначен для принудительного отвода анализата побудителем расхода жидкости (модель LKB 2132, Швеция), что в совокупности с гравитационным воздействием обеспечивает равномерное поступление пробы образца в жидкой фазе к функциональной поверхности кварцевой пластины. В дополнение, в модифицированном варианте жидкостной ячейки с семью каналами над функциональной поверхностью кварцевой пластины установлен дополнительный электрод из химически неактивного металла, образующий конденсатор с электродом функциональной поверхности кварцевой пластины. Дополнительный электрод соединен с центральным аспирирующим каналом, что позволяет использовать энергию постоянного и/или пульсирующего электрического поля наряду с энергией гравитационного поля для увеличения эффективности сорбции антигенов или иммуноглобулинов за счет иммуноэлектроим-

мобилизации. При этом есть основания полагать, что действие внешней энергии приводит к увеличению прочности биоспецифического взаимодействия активных центров антител и антигенов в иммунокомплексах, образующих более вязкую среду на функциональной поверхности кварцевой пластины.

Предварительные расчеты давления в контрольной камере, удельной энергии электрического поля, наряду с измерениями электрометрических параметров, прикладываемых к электродам контрольной камеры, показали возможность регистрации сдвига частот в зависимости от массовой нагрузки на функциональной поверхности пластины иммуносенсора в пределах совокупной энергии (работы) электрического поля в течение 2 минут не более 4,1 Дж. При этом максимальное гидравлическое давление, развиваемое столбом жидкости высотой 1,8 мм, составляет $1,8 \times 10^{-2}$ мН₂O, что существенным образом не проявляется на частотных характеристиках кварцевой пластины.

К позитивным особенностям вариантов модифицированных ЖЯ относятся использование для их изготовления технологичных для обработки и доступных материалов; возможность быстрой разборки модели для её обработки; наличие цилиндрической емкости объемом 1,2 мл на крышке контрольной камеры; обеспечение ламинарного потока образца за счет двух или шести подающих каналов, что в разы снижает скорость потока над функциональной поверхностью кварцевой пластины; наличие дополнительного электрода из химически неактивного металла над функциональной поверхностью кварцевой пластины, возможность приложения энергии постоянного и/или пульсирующего электрического поля в режиме их сочетания к электроду функциональной поверхности пластины и дополнительному электроду, установленному в контрольной камере.

Для оптимизации параметров прикладываемого постоянного тока образец исследуемой пробы в объеме 500 мкл электрофоретического буфера, с концентрацией $1,0 \times 10^5$ убитых клеток тулярийного микроба, вносили в цилиндрическую емкость на крышке ЖЯ. К дополнительному электроду и электроду функциональной поверхности кварцевой иммуносенсорной пластины прикладывали постоянный электрический ток (1,5 В, 0,01 А) и равномерные короткие импульсы (12 раз в минуту, длительностью 0,1–0,2 секунды) постоянного тока от источника (аккумулятор, 6 В), параллельно включаемого в цепь постоянного электрического тока в течение 2-минутного периода измерения. Контрольные измерения электрометрических параметров постоянного тока проводили мультиметром. Из контрольной камеры по центральному металлическому капилляру и силиконовому капилляру образец пробы отводили в чашку Петри. Сдвиг частоты после компьютерной обработки результатов составил 492 Гц.

Таким образом, результаты эксперименталь-

ных испытаний вариантов ЖЯ свидетельствуют о возможности их использования в проточно-инжекционном варианте анализа жидкостей путем простой и быстрой замены пьезоиммуносенсора за счет легко разъединяемых узлов устройства. Предлагается увеличить прочность иммобилизации детектируемых компонентов на функциональной поверхности кварцевой пластины путем дополнительного энергетического воздействия направленным потенциалом постоянного электрического тока. Созданные авторами варианты конструкций ЖЯ позволяют обеспечивать ламинарную подачу проб образцов через 2 или 6 латеральных каналов в контрольную камеру за счет ускорения силы тяжести, а также возможности использования энергии постоянного и/или пульсирующего электрического поля для ускорения перемещения антигенов и антител. Материалы вариантов ЖЯ (заявка № 2014127135 от 03.07.2014) находятся на рассмотрении в ФИПС для получения патента РФ на полезную модель.

УДК 57.083.3:616.9

Ерш А. В., Полтавченко А. Г., Никонов А. М.

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОГЕНОВ

*ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Кольцово, Новосибирская обл.*

Масштабные вспышки инфекционных заболеваний неоднократно возникали на протяжении всей истории существования человечества и приводили к большому количеству смертей, панике, нарушению торговли и политической нестабильности. В настоящее время ситуация хотя и несколько смягчена, но остается по-прежнему сложной. По данным ВОЗ, на долю инфекционных заболеваний сейчас приходится 24,7 % всех смертей в мире. В развивающихся странах, где здравоохранение слабо финансируется, этот показатель возрастает до 45 %. Детская смертность от инфекционных заболеваний достигает 63 % от всех детских смертельных случаев, и 48 % преждевременных смертей (возраст до 45 лет) имеют инфекционную этиологию. Вспышка заболевания в любом месте Земного шара может рассматриваться как угроза для любого другого региона. Как только инфекционное заболевание или насекомые и животные, которые являются его переносчиками, проникают в новую страну или континент, контролировать его распространение становится очень трудным, если не невозможным.

В целях улучшения качества жизни населения и биобезопасности страны необходимы ответные меры по противодействию распространению ин-

фекционных болезней, которыми, в первую очередь, являются их диагностика и специфическая профилактика. Современная медицина использует достаточно много разнообразных методов и средств для диагностики инфекционных заболеваний. Особую популярность приобрел иммуноферментный анализ (ИФА), который обладает высокой специфичностью и чувствительностью, но является моноспецифичным.

Мультиплексная иммунодиагностика – новое направление, предполагающее использование устройств (так называемых «белковых матриц» или «иммуночипов»), позволяющих одновременно определять в исследуемом образце множество различных антигенов или антител. Мы считаем, что более целесообразно ограничить число анализов и создавать матрицы, позволяющие проводить дифференциальную диагностику по отдельным группам заболеваний, вызывающих сходные симптомы (например, респираторных, желудочно-кишечных, урогенитальных и т. п.). Такой подход сочетает мультиплексность с простотой изготовления и применения иммуночипов, а также может быть реализован с использованием доступных материалов и устройств. Главное достоинство такого подхода в том, что образец в одном анализе может быть проверен на все инфекции, вызывающие сходные симптомы заболевания. Методология применения белковых матриц представляет собой дот-иммуноанализ с применением золотых или серебряных иммунозолей, усилением сигнала физическим проявлением и стабилизацией оптического сигнала. Можно использовать метку щелочной фосфатазой, но себестоимость такой системы почти на порядок выше, а контрастность сигналов ниже. Такой анализ предполагает 5 этапов с промежуточными промывками и выполняется в течение 1 часа при комнатной температуре. Наш иммуночип состоит из небольшой пластмассовой подложки с нанесенными в определенном порядке антигенами нескольких возбудителей. Число анализируемых инфекций ограничено (не более 8–10), что позволяет легко контролировать нанесение антигенов на подложку, а также визуально учитывать результаты. С другой стороны, это число обычно охватывает список дифференцируемых заболеваний и потому может быть и достаточным, и удобным для практического применения. Нами уже разработано несколько мультиплексных тест-систем – к возбудителям TORCH-инфекций, к детским вакциноуправляемым вирусным инфекциям – и в настоящее время они проходят межлабораторные испытания на реальных клинических образцах.

Упомянутые выше методические подходы универсальны и могут быть использованы при производстве мультиплексных тестов любой специфичности. А в перспективе подобные тест-системы могут быть созданы для контроля донорской крови, дифференциации хронических инфекций, диагностики паразитарных и аллергических заболеваний и т. п.

Внедрение технологии белковых матриц в медицинскую практику позволит сделать обследование пациентов более простым, быстрым, дешевым и доступным. Пригодны такие тесты и для проведения эпидемиологических исследований и санитарно-эпидемиологического контроля.

УДК 579.61

**Заручейнова О. В., Закревская А. В.,
Куляшова Л. Б., Рока В. В., Вербов В. Н.**

**АПРОБАЦИЯ НАБОРОВ
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *UREAPLASMA*
UREALYTICUM И *MYCOPLASMA*
HOMINIS И ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ИХ АНТИБИОТИКО-
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ**

*ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург*

Среди заболеваний, передающихся половым путем, все большее значение приобретают воспалительные процессы, этиологическим агентом которых выступают условно-патогенные бактерии и грибы, являющиеся составной частью нормального биоценоза урогенитального тракта. Наиболее значимыми среди них являются микоплазменные инфекции, к возбудителям которых относят *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) и *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*). В настоящее время выявление *M. hominis* и *U. urealyticum* осуществляют культуральным методом и методом ПЦР (ПЦР Real-time). Клинически значимым является обнаружение *M. hominis* и *U. urealyticum* в количестве 10⁴ КОЕ/мл. Предварительное определение чувствительности к антибактериальным препаратам при назначении лечения микоплазменных инфекций позволяет снизить удельный вес положительных результатов при повторном обследовании после курса антибиотикотерапии.

Культуральная диагностика микоплазменных инфекций на селективных средах позволяет не только идентифицировать возбудителя, провести количественную оценку его содержания, но и определить антибиотикочувствительность исследуемых штаммов. Для этих целей в нашей стране используют как импортные тест-системы («Mycoplasma Ist» фирмы «BioMerieux»; «Mycoplasma DUO», «Mycoplasma SIR» фирмы «Bio-Rad»; «MYCOFAST» фирмы «EliTech»), так и отечественные («Уро-тест» производства НПО «Иммунотэкс»).

Цель исследования: проведение сравнительного анализа метода ПЦР и культуральной диагностики *M. hominis* и *U. urealyticum* на разработанных наборах, позволяющих проводить полу-

количественную оценку титра микроорганизмов и определение их антибиотикочувствительности; оценка диагностической ценности разработанных наборов по сравнению с тест-системами зарубежных аналогов.

Исследование проводилось на клиническом материале, полученном от 305 пациентов (мужчин и женщин), обратившихся для амбулаторного обследования в Медицинский Центр ФБУН НИИ-ЭМ им. Пастера, г. Санкт-Петербург. Выявление *M. hominis* и *U. urealyticum* методом ПЦР Real-time проводилось на наборах «АмплиСенс», г. Москва. Применяли ДНК-амплификатор АНК-32 (Россия). Для культурального выявления *M. hominis* и *U. urealyticum* на селективных питательных средах использовали наборы «Микоплазма-50» и «Уреаплазма-50» производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера. На основании положительных результатов ПЦР 26 клинических изолятов *M. hominis* и 25 изолятов *U. urealyticum* параллельно исследовали на наборах «Микоплазма-АЧ», «Уреаплазма-АЧ» и «Уреа/Мико-Скрин-АЧ» производства ФБУН НИИЭМ им. Пастера и «Mycfast Evolution 3» фирмы «EliTech» (Франция) и «Mycoplasma IST 2» фирмы «BioMerieux» (Франция).

В основе наборов «Микоплазма-50», «Уреаплазма-50», «Микоплазма-АЧ», «Уреаплазма-АЧ» лежит использование селективных питательных сред для выявления либо *M. hominis*, либо *U. urealyticum*. В наборе «Уреа/Мико-Скрин-АЧ» используется универсальная питательная среда для выявления и *M. hominis*, и *U. urealyticum*. Наборы «Микоплазма-АЧ», «Уреаплазма-АЧ» и «Уреа/Мико-Скрин-АЧ» разработаны в виде микротест-систем, подобно зарубежным аналогам, в лунках стрипов которых сорбированы антибиотики различных групп, которые зарегистрированы на территории РФ и используются в лечении микоплазменных инфекций практикующими врачами.

Результаты: совпадение результатов исследований культуральным и ПЦР-методом при обнаружении *U. urealyticum* составило 95,9 %. Только в 4,1 % случаев наблюдалось расхождение в результатах: в 3 пробах положительный ответ при культуральном исследовании и отсутствие ДНК возбудителя при использовании метода ПЦР, и в 1 пробе – наоборот. При идентификации *M. hominis* положительный результат, полученный методом ПЦР, был подтвержден культуральным методом в 71,0 % случаев, и в 29,0 % случаев наблюдалось расхождение результатов: положительный ответ метода ПЦР при отрицательном культуральном исследовании. Роста культуры на питательной среде выявлено не было при отрицательных результатах методом ПЦР.

При сравнении наборов для выявления и определения антибиотикочувствительности *M. hominis* была выделена в 100 % случаев на питательной среде набора «Микоплазма-АЧ», в 88,5 % – на универсальной среде в наборе

«Уреа/Мико-Скрин-АЧ», как и на среде набора «Mycofast Evolution 3», и всего в 73,1 % случаев – на питательной среде набора «Mycoplasma IST 2». Изоляты *U. urealyticum* были выделены в 100 % случаев на питательной среде набора «Уреаплазма-АЧ», результаты для наборов «Уреа/Мико-Скрин-АЧ» и «Mycoplasma IST 2» совпали и составили 96 %, а выделение *U. urealyticum* на питательной среде набора «Mycofast Evolution 3» наблюдалось в 92 % случаев. По определению чувствительности к антибактериальным препаратам также наблюдались некоторые несовпадения, вероятно, связанные с тем, что концентрации в лунках исследуемых наборов для нескольких антибиотиков различались, как различается состав антибиотиков для каждого набора. Результаты исследования можно было интерпретировать только для четырех антибиотиков (доксциклин, офлоксацин, ципрофлоксацин и джозамицин) к *M. hominis*, и для четырех антибиотиков (доксциклин, офлоксацин, азитромицин и джозамицин) – к *U. urealyticum*.

Таким образом, проведенное нами сравнительное исследование культурального метода с использованием разработанных ФБУН НИИЭМ им. Пастера наборов и метода ПЦР для идентификации *U. urealyticum* и *M. hominis* выявило высокий процент совпадения результатов, особенно в отношении *U. urealyticum*. Испытания показали, что разработанные наборы ФБУН НИИЭМ им. Пастера, как и тест-системы зарубежных аналогов, обладают высокой диагностической ценностью.

УДК [579.61:616-078]:60

Зуенко А. А.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ДИАГНОСТИКУМА БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ЖИДКОГО ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ, СУСПЕНЗИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Проблема заболеваемости людей бруцеллезом в Российской Федерации продолжает сохранять свою актуальность (Желудков М. М. с соавт., 2009; Лямкин Г. И., с соавт., 2010, 2013), что обуславливает постоянную потребность учреждений санитарно-эпидемиологического надзора и практического здравоохранения в медицинских иммунобиологических препаратах (МИБП) для диагностики данного заболевания (Онищенко Г. Г., с соавт., 2009; Shang D., 2002; Yumiko Imada, 2004).

В практическом здравоохранении при лабора-

торной диагностике бруцеллеза широко используется иммуносерологический метод исследования – реакция агглютинации (РА) с диагностикомом бруцеллезным жидким, суспензией для диагностической целей.

Отличительной особенностью производства МИБП являются биологические процессы, которые характеризуются вариабельностью. В связи с этим стандартизация биотехнологии производства МИБП и методы их внутрипроизводственного контроля имеют важное значение.

Одним из перспективных направлений в области качества является оценка стабильности производства МИБП (Ефимов В. В. с соавт., 2006; Сухомлин И. Г. с соавт., 2006; Клячкин В. Н. с соавт., 2007), а также определение стабильности препаратов для диагностики *in vitro* в масштабе реального времени и ускоренными методами исследований (ОФС 42-0075-07; ГОСТ Р ЕН 13640-2010).

Целью настоящей работы явилось совершенствование биотехнологии производства и качества диагностикума бруцеллезного жидкого. Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи: разработать отраслевой стандартный образец сыворотки бруцеллезной поливалентной; изучить стабильность биотехнологического процесса производства диагностикума бруцеллезного жидкого; изучить стабильность его коммерческих серий.

Технологическая схема производства диагностикума бруцеллезного жидкого включает стадию получения сыворотки бруцеллезной диагностической поливалентной для реакции агглютинации, которая используется для контроля его специфической активности и специфичности. Одним из возможных путей совершенствования стандартизации биотехнологии производства и качества диагностикума бруцеллезного является разработка отраслевого стандартного образца (ОСО) на сыворотку бруцеллезную поливалентную агглютинирующую. Существующие технологии ее производства не позволяют получить конечный продукт со стабильными значениями конечных титров. Однако известно, что использование различных методов стабилизации свойств диагностических препаратов, в частности, лиофильного высушивания, делает возможным увеличение срока годности диагностических сывороток и сохранение стабильности их свойств (Никитин Е. Е., 1977; Белоус А. М., 1994).

Сыворотку бруцеллезную поливалентную получали от кроликов породы Шиншилла, иммунизированных различными вакцинными штаммами бруцелл (*Brucella (B.) abortus* 19 ВА, *B. suis* 61, *B. melitensis* Rev-1). Для контроля качества препарата использовали набор гомологичных (*B. abortus* 19 ВА, *B. suis* 61, *B. melitensis* Rev-1) и гетерологичных штаммов (*Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, *Yersinia enterocolitica* 09 серовара 383, *Salmonella typhimurium* 9640, *Escherichia coli* 113-3). Для оценки специфичности и чувствительности применяли

штаммы *Y. pestis* EV, *E. coli* ATCC 25922, *B. melitensis* 16 M, *B. abortus* 544, *B. suis* 1330.

В результате проведенных исследований разработана схема иммунизации кроликов-продуцентов. Отработаны оптимальные параметры лиофильного высушивания препарата. Предложен ОСО сыворотки бруцеллезной поливалентной для оценки правильности результатов определения активности производственных серий сыворотки бруцеллезной поливалентной по следующим показателям: подлинность, специфическая активность и специфичность в реакции агглютинации, а также для контроля качества диагностикума бруцеллезного жидкого.

Разработанный препарат утвержден директором Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в качестве ОСО 42-28-425-2012 «Сыворотка бруцеллезная диагностическая поливалентная сухая для реакции агглютинации».

Следующим этапом наших исследований явилась аттестация пяти критических биотехнологических подпроцессов производства семи серий диагностикума бруцеллезного жидкого. Рассмотрен ряд биотехнологических параметров: температура инкубации производственного штамма, концентрация взвеси бакмассы, температура обеззараживания бакмассы, конечная концентрация красителей.

Результаты анализа всех изученных биотехнологических подпроцессов подтверждают, что биотехнологический процесс производства диагностикума бруцеллезного жидкого стабилен, соответствует требованиям нормативной документации. Аттестованные биотехнологические параметры повторяемы и воспроизводимы.

Одной из задач наших исследований было и определение стабильности диагностикума бруцеллезного жидкого в 14 коммерческих сериях препарата со сроками хранения более 2 лет (2,5 и 3 года) при регламентированной температуре хранения от 2 до 8 °С. Кроме того, изучено действие высоких температур на свойства данного препарата (внешний вид, специфическая активность). Эксперименты проведены на арбитражных образцах 12 коммерческих серий препарата со сроками хранения до 2 лет. Исследуемые образцы выдерживали в термостате при температуре (40 ± 1) °С, (58 ± 1) °С, в течение 14 сут и 21 сут. Контролем были серии препарата, хранившиеся в течение регламентированного срока годности (2 года) при температуре от 2 до 8 °С, согласно требованиям нормативной документации.

Критериями стабильности препарата служили его внешний вид и специфическая активность, которую оценивали в РА, согласно техническим условиям на препарат.

Проведенные эксперименты показали, что при хранении диагностикума бруцеллезного жидкого при температуре от 2 до 8 °С более 2 лет незначи-

тельно изменяется его внешний вид (исходный цвет взвеси и осадка на дне ампулы с сине-голубого меняется на синий). В то же время показатели специфической активности препарата соответствовали паспортным данным на изученные серии препарата и требованиям технических условий.

Высокие температуры хранения (40 ± 1) °С, (58 ± 1) °С, в течение 14 сут и 21 сут, не влияли на гомогенность и специфическую активность препарата. Однако повышенные температуры вызывали изменение цветности диагностикума бруцеллезного жидкого, вероятно, за счет распада бриллиантового зеленого – красителя, применяемого в биотехнологии его производства. Окраска взвеси и осадка на дне ампулы изменялась в опытных сериях с сине-голубого или синего цвета на сине-фиолетовый. Результаты влияния высоких температур (40 ± 1) °С, (58 ± 1) °С на свойства диагностикума бруцеллезного жидкого в течение 14 сут и 21 сут свидетельствуют о стабильности его специфической активности в реакции агглютинации и о несущественном изменении его внешнего вида.

Данные исследований коммерческих серий диагностикума бруцеллезного жидкого верифицировали срок годности и стабильность показателей его качества, как при воздействии высоких температур, так и при хранении в течение 3 лет (срок наблюдения).

Таким образом, в результате проведенных исследований усовершенствована биотехнология производства диагностикума бруцеллезного жидкого посредством разработки ОСО «Сыворотка бруцеллезная диагностическая поливалентная сухая для реакции агглютинации».

Стабильность производства диагностикума бруцеллезного жидкого подтверждена аттестацией пяти биотехнологических подпроцессов производства, стабильностью его регламентированных показателей качества как при воздействии высоких температур, так и при хранении в течение трех лет (срок наблюдения).

Полученные данные являются основанием для рассмотрения вопроса об увеличении срока годности диагностикума бруцеллезного жидкого с двух до трех лет, расширения температурного режима его транспортирования (в течение 14 сут при 25 ± 1 °С) и внесения соответствующих изменений в действующую нормативную документацию.

УДК 576.851.132:616.982.27-033

Ким Е. Э., Храпова Н. П., Замарина Т. В.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
КОНЬЮГАТЫ
ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИЕ
НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ
АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ 200 КДА
B. PSEUDOMALLEI:
ПОЛУЧЕНИЕ, СПЕЦИФИЧНОСТЬ
И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ**

*ФКУЗ Волгоградский
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Волгоград*

Согласно принятой классификации, возбудитель мелиоидоза является микроорганизмом II группы патогенности для человека. С 2007 года мелиоидоз внесен в перечень международных медико-санитарных правил в качестве инфекции, требующей постоянного надзора в связи с расширением зон эндемичного распространения данного патогена, отсутствием зарегистрированных средств диагностики и специфической профилактики, а также эффективных схем лечения данного заболевания.

Для иммунодиагностики мелиоидоза в схеме индикации и идентификации рекомендовано применение следующих методов экспресс- и ускоренного обнаружения: метод флуоресцирующих антител с иммуноглобулинами диагностическими флуоресцирующими мелиоидозными, твердофазный иммуноферментный анализ, а также реакция непрямой гемагглютинации с диагностикомом эритроцитарным сапным и мелиоидозным иммуноглобулиновым.

В последние годы среди микробиологов возрос интерес к созданию иммунодиагностических препаратов на основе моноклональных антител (МКА) к гликопротеину 200 kDa *B. pseudomallei*. Это связано с тем фактом, что выявление вирулентных штаммов возбудителя мелиоидоза, а также их дифференциация от авирулентных вариантов связаны с присутствием в капсуле бактерий гликопротеина с м. м. 200 kDa.

Одним из перспективных направлений в области исследования возбудителя мелиоидоза является изучение его антигенных структур как возможных мишеней для изготовления специфичных иммунобиологических препаратов медицинского назначения, позволяющих не только быстро и эффективно выявлять *B. pseudomallei*, дифференцировать вирулентные и авирулентные штаммы этого возбудителя, выделяемые из проб клинического материала и объектов внешней среды, но и проводить дифференциацию патогенных буркхольдерий от условно-патогенных и других микроорга-

низмов. По литературным данным, *B. thailandensis* имеет близкое антигенное родство с высоковирулентными патогенами человека и животных *B. pseudomallei* и *B. mallei*, но обладает гораздо меньшей вирулентностью по сравнению с ними.

В связи с этим совершенствование лабораторной диагностики мелиоидоза, направленное на разработку препаратов и тест-систем на основе моноклональных антител к антигену 200 kDa *B. pseudomallei*, предназначенных для обнаружения и идентификации вирулентных штаммов *B. pseudomallei*, представляется актуальным.

Целью настоящей работы явилось получение и изучение диагностических свойств конъюгатов на основе МКА к различным эпитопам антигена 200 kDa.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы буркхольдерий II (*B. pseudomallei* – 49 штаммов, *B. mallei* – 10 штаммов) и III–IV (*B. thailandensis* – 5 штаммов, *B. cepacia* – 5 штаммов, *B. gladioli* – 3 штамма) групп патогенности, полученные из коллекционного центра ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Буркхольдерии выращивали на агаре, приготовленном на основе гидролизата казеина, с 5 % глицерина (ГКА), pH 6,8, при 37 °C в течение 48 ч. Работу с вышеназванными бактериями выполняли в соответствии с положениями СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2518-09 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08».

Источником получения МКА к эпитопам поверхностных антигенов микробных клеток *B. pseudomallei* являлись гибридомы-продуценты: 3C₆, 5C₂, 4A₁₀, 5C₉, 6A₁₁, 5H₁₁, 6F₉, 6B₇, 6E₇, 7A₈ из коллекции лаборатории иммунодиагностики и биотехнологии ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Гибридомы-продуценты МКА, постоянно хранящиеся в жидком азоте, использовали в работе в качестве источника получения МКА. Сразу после размораживания коллекционных образцов гибридом-продуцентов МКА была определена их жизнеспособность. С целью быстрого восстановления функции антителопродукции на уровне паспортных данных и пролиферативных показателей каждую из гибридом вновь реклонировали. Основной средой культивирования гибридных клеток служила питательная среда RPMI-1640 с необходимыми ингредиентами и 15 % ЭТС. Накопление препаративных количеств МКА проводили *in vivo*.

Моноклональные иммуноглобулины из асцитической жидкости осаждали сульфатом аммония при 50 % его насыщения. В образцах иммуноглобулинов, освобожденных от сульфата аммония, содержание белка определяли спектрофотометрически при длине волны 280 нм. Специфическую

активность антител оценивали по результатам ТИФМ.

Для подтверждения взаимодействия полученных МКА с эпитопами, локализованными на поверхности микробных клеток *B. pseudomallei*, использовали непрямой метод флуоресцирующих антител (НМФА).

С помощью НМФА были получены доказательство взаимодействия исследованных вариантов МКА с эпитопами, экспонированными на поверхности микробных клеток *B. pseudomallei* 100. Этот высоковирулентный штамм являлся источником получения всех серий гликопротеина 200 kDa, применявшихся в исследовании. Установлено, что эпитопы, узнаваемые каждым из изученных вариантов МКА, экспрессированы на поверхности микробных клеток высоковирулентного штамма *B. pseudomallei* 100 с различной плотностью, о чем свидетельствовали показатели удельной активности этих иммуноглобулинов, существенно отличавшиеся друг от друга.

Для изготовления экспериментальных конъюгатов были использованы МКА, выделенные из асцитической жидкости, отличавшиеся высокими показателями активности в ТИФМ и НМФА. Каждый из десяти вариантов МКА был конъюгирован с флуорохромом. После очистки конъюгатов и расчета основных показателей результативности конъюгирования флуоресцеин-5-изотиоцианата (ФИТЦ) с белком для последующей работы был отобран ряд экспериментальных серий, охарактеризованных по показателям концентрации белка в препарате, молярного соотношения ФИТЦ/белок и величине рабочего разведения. Полученные данные свидетельствовали о том, что из 10 типов МКА четыре ($3C_6$, $5C_2$, $5H_{11}$, $6A_{11}$) по своим параметрам перспективны для дальнейшего изучения. Эти МКА не снижали активности в результате конъюгирования с флуорохромом.

Следующим этапом работы явилась оценка спектра специфической активности для выбранной группы экспериментальных образцов. Для этого использовали весь вышеназванный набор музейных штаммов патогенных и непатогенных буркхольдерий. В качестве контроля использовали производимый в настоящее время стандартный препарат на основе МКА к термостабильному поверхностному антигену возбудителя мелиоидоза ($1F_4$). Этот препарат специфически окрашивал 80 % коллекционных штаммов *B. pseudomallei*, все штаммы

B. thailandensis, не взаимодействовал с *B. mallei*, *B. cepacia* и *B. gladioli*, что полностью соответствовало его паспортным данным.

В то же время, препараты, приготовленные на основе МКА $3C_6$, $5C_2$, $5H_{11}$, $6A_{11}$, обладали более узким спектром специфической активности, взаимодействуя с 51 %, 49 %, 47 % и 53 % штаммов *B. pseudomallei* соответственно. Кроме того, они специфически окрашивали микробные клетки *B. mallei*. Результаты МФА с препаратами $3C_6$, $5C_2$, $5H_{11}$, $6A_{11}$

демонстрировали различную степень активности этих иммуноглобулинов, флуоресцирующих в отношении 10 штаммов возбудителя сапа: конъюгат $3C_6$ специфически окрашивал микробные клетки 5 штаммов, $5C_2$ – 1 штамма, $5H_{11}$ – 2 штаммов, $6A_{11}$ – 10 штаммов *B. mallei*.

Специфичность всех экспериментальных образцов иммуноглобулинов флуоресцирующих моноклональных оценивали по результатам окрашивания мазков-препаратов, приготовленных из взвесей гетерологичных микроорганизмов III–IV групп патогенности: *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *B. gladioli*.

Три из четырех вновь приготовленных препаратов ($3C_6$, $5H_{11}$ и $6A_{11}$) проявили себя как специфические диагностические средства, не взаимодействующие ни с одним из взятых в работу штаммов гетерологичных микроорганизмов. В свою очередь, конъюгат, изготовленный на основе МКА $5C_2$, обладал перекрестной активностью в отношении *B. thailandensis* и *B. cepacia* (выявлял по 1 из 5 штаммов каждого из этих видов условно-патогенных микроорганизмов). Представляют интерес данные об отсутствии кросс-реактивности МКА $3C_6$, $6A_{11}$, $5H_{11}$ в отношении *B. thailandensis*, что отличает эти варианты антител от производимого в настоящее время коммерческого препарата на основе МКА $1F_4$ к термостабильному поверхностному антигену возбудителя мелиоидоза. По данным литературы, подавляющее большинство экспериментальных препаратов и тест-систем, предназначенных для обнаружения возбудителя мелиоидоза, не позволяют дифференцировать эти два вида буркхольдерий.

Таким образом, на основе высокоактивных моноклональных иммуноглобулинов различной эпитопной направленности (МКА $3C_6$, $5C_2$, $5H_{11}$, $6A_{11}$), взаимодействующих с гликопротеином капсулы возбудителя мелиоидоза с м.м. 200 kDa, были получены экспериментальные конъюгаты для МФА, охарактеризованные по параметрам качества и пригодности для работы с чистыми культурами буркхольдерий.

УДК 573.6.086.83:615.33

**Ковалев Д. А.¹, Котова А. А.²,
Бороденко А. Ю.², Сирица Ю. В.¹,
Батурин В. А.²**

**ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ
НИОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ
ЦЕФОТАКСИМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
НА БИОМОДЕЛЯХ ПРИ ВВЕДЕНИИ
PER OS**

¹ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,

²ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения (ООО Центр клинической фармакологии и фармакотерапии), Ставрополь

В настоящее время одной из перспективных стратегий повышения эффективности действия лекарственных препаратов является создание их новых форм с применением методов микрокапсулирования.

Ниосомы – это стабильные микроскопические везикулы, образованные одной или несколькими бислоями мембранами различного состава. Широкое применение неионных ПАВ и липидов в конструировании подобных систем обусловлено их биосовместимостью, способностью к биодеградации, а также низкой токсичностью [Mozafari M. R., 2007].

Для изучения свойств ниосом, пенетрирующих и модифицирующих фармакокинетику лекарственных препаратов, был выбран цефотаксим, который с относительно высокой эффективностью включается в ниосомы и фармакокинетические параметры которого определяются при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Цефотаксим – полусинтетический антибиотик группы цефалоспоринов III поколения, главным образом, для парентерального применения. Механизм действия связан с высокой тропностью цефотаксима к пенициллинсвязывающим белкам оболочки бактерий и способностью блокировать полимеразу пептидогликана, нарушать биосинтез мукопептида клеточной стенки микроорганизмов. Антибиотик устойчив к четырем из пяти известных бета-лактамаз грамотрицательных бактерий и пенициллиназе стафилококков. Особое значение имеет применение цефотаксима для лечения инфекций дыхательных путей, кожи и мягких тканей, бактериального менингита и других инфекционных болезней [http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_751.htm].

Цель работы заключалась в изучении особенностей фармакокинетики цефотаксима, в составе анионных ПЭГ-содержащих ниосом на основе сорбитана моностеарата, при пероральном введении экспериментальным кроликам.

Ниосомальную форму цефотаксима получали методом обращенно-фазовой отгонки, описанным ранее [Ковалев Д. А. с соавт., 2012].

Биологический эксперимент был выполнен на 11 кроликах. Животным в пищевод с помощью зонда вводили раствор цефотаксима в дозе 50 мг/кг (контрольная группа: 4 кролика). Другим – аналогичным способом вводился ниосомальный гель, включавший цефотаксим (опытная группа: 7 кроликов). При этом использовалась такая же доза: 50 мг/кг.

Через стандартные промежутки времени (30 мин., 1 ч, 2 ч, 3 ч, 5 ч и 7 ч) у кроликов забирали венозную кровь (из ушной вены) в количестве 0,3 мл. В ходе центрифугирования получали плазму, которая использовалась для определения концентрации в ней антибиотика – цефотаксима. Концентрацию антибиотика определяли методом ВЭЖХ.

Фармакокинетические параметры рассчитывали на основании кривой зависимости средней концентрации цефотаксима от времени после однократного введения свободной или ниосомальной формы антибиотика. Значения максимальной концентрации в сыворотке крови (C_{max}), времени достижения максимальной концентрации после введения препарата (T_{max}) и времени полувыведения антибиотика ($T_{1/2}$) определяли по индивидуальным графикам зависимости концентрации цефотаксима в сыворотке крови от времени. Площадь под фармакокинетическими кривыми «концентрация – время» ($AUC_{0-\infty}$) рассчитывали методом трапеций. Относительную биодоступность ниосомальной формы антибиотика по отношению к свободной определяли по отношению $AUC_{0-\infty, N}/AUC_{0-\infty}$.

Сравнительный анализ фармакокинетических параметров цефотаксима показал, что максимальная концентрация антибиотика при введении ниосомальной формы на 10,9 % выше по сравнению со свободной формой. Относительное увеличение пиковой нагрузки при использовании новой лекарственной формы цефотаксима может способствовать повышению экономической эффективности использования соответствующей субстанции при производстве коммерческого препарата.

При использовании раствора цефотаксима максимальная концентрация в плазме крови (C_{max}) отмечалась через 1 ч после введения препарата, в то время как для препарата ниосомы – цефотаксим C_{max} наблюдалась спустя 2 ч после введения. Сдвиги значения времени достижения максимальной концентрации после введения препарата при использовании ниосом с включенным антибиотиком может быть связано с тем, что ниосомальные микроконтейнеры выполняют функцию депо, медленно высвобождая инкапсулят.

При пероральном введении ниосомы способны преодолевать кишечный барьер, после чего, вероятно, вступают в прямое взаимодействие с клетками нескольких типов, включая клетки крови,

фагоциты, высокоспециализированные клетки поверхности стенок кровеносных сосудов. Под воздействием специализированных ферментов происходит расщепление ковалентных химических связей отдельных компонентов на поверхности ниосом, что сопровождается высвобождением инкапсулированного вещества.

Следствием проявления эффекта медленного высвобождения действующего вещества в составе ниосом является увеличение площади под кривой «концентрация – время» ($AUC_{0-\infty}$) при использовании ниосомального препарата в среднем в 1,3 раза по сравнению со свободной формой антибиотика, что свидетельствует о повышении эффективности применения цефотаксима в составе ниосом.

Время полувыведения цефотаксима ($T_{1/2}$) в составе ниосом превышало аналогичный показатель свободной формы в среднем в 2,1 раза.

Установленные фармакокинетические параметры цефотаксима в составе ниосомальной дисперсии подтверждают сформулированные ранее предположения о стабильности ПЭГ-содержащих ниосомальных микровезикул на основе сорбитана моностеарата в условиях *in vivo* [Ковалев Д. А. с соавт., 2012].

Таким образом, в ходе исследования было показано, что анионная ПЭГ-содержащая ниосомальная форма цефотаксима на основе сорбитана моностеарата позволяет повысить эффективность использования антибиотика по сравнению со свободной формой, а также пролонгировать действие препарата. Анализ фармакокинетических параметров различных гидрофобных и амфифильных антибиотиков в составе ниосомальных дисперсий позволяет предположить, что закономерности изменения основных свойств соединений в составе ниосом имеют универсальный характер. Разработанная в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора стандартизированная технология изготовления ниосом может быть использована для получения ниосомальных форм широкого спектра антимикробных веществ, в том числе – эффективных комбинированных препаратов.

УДК 615.371/.372:663.15:66.081.63

Комиссаров А. В., Еремин С. А.,
Феськова А. С., Задохин С. Н.,
Ливанова Л. Ф., Лобовикова О. А.,
Шульгина И. В., Никифоров А. К.

НОВЫЙ СОСТАВ ТАБЛЕТОК ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

ФКУЗ Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора,
Саратов

В качестве средства специфической профилактики холеры на территории России используется вакцина холерная бивалентная химическая – таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Данная вакцина включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям в соответствии с Приказом Минздрава России № 229 от 27.06.2001 г. Вакцина представляет собой композицию в форме таблеток, содержащую в качестве активного компонента смесь лиофилизированных холерогена-анатоксина и О-антигенов, полученных из инактивированных формалином бульонных культур холерных вибрионов О1 серогруппы – *Vibrio cholerae* 569В классического биовара серовара Инаба и *V. cholerae* М-41 классического биовара серовара Огава (6–19 мас.%), и – в качестве наполнителя – следующие вещества при их соотношении, мас. %: сахароза – 57–38; крахмал – 27; тальк – 4–6; кальций стеарат – 4–6; кишечнорастворимое покрытие из целлацефата – 2–4.

Таблетки получают методом прямого прессования. Недостатком данного способа являются большие потери таблеточной смеси при таблетировании, возникающие за счет ее прилипания к пуансонам при недосушивании. При пересушивании она плохо прессуется и часть смеси после формирования таблетки в виде порошка высыпается из нижнего пуансона. При этом потери составляют от 10 до 30 %. К недостаткам состава вспомогательных веществ можно также отнести повышенное содержание стеарата кальция (до 6 %) и талька (до 6 %), хотя Государственная Фармакопея (издание 11, выпуск 2) рекомендует содержание данных компонентов не более 1 и 3 % для стеарата кальция и талька соответственно.

Нами разработана новая композиция в форме таблеток, содержащая в качестве активного компонента смесь лиофилизированных холерогена-анатоксина и О-антигенов, полученных из инактивированных формалином бульонных культур холерных вибрионов О1 серогруппы – *V. cholerae* 569В классического биовара серовара Инаба и *V. cholerae* М-41 классического биовара серовара Огава (6–19 мас.%), отличающаяся тем, что в

качестве наполнителя используются следующие компоненты при их соотношении, мас. %: лактозы моногидрат – 44,3–36,3; целлюлоза микрокристаллическая – 44,3–36,3; поливинилпироллидон – 0,4–0,8; кишечнорастворимое покрытие Acryl-eze – 5–8. Все компоненты описаны в качестве вспомогательных веществ в Европейской Фармакопее.

Таблеточная смесь подвергалась гранулированию методом псевдооживленного слоя с распылением связующего вещества сверху в аппарате фирмы GLATT GPCG 2. В качестве связующего вещества для образования гранул использовался 10 % водный раствор поливинилпироллидона. Масса таблеточной смеси после гранулирования составила 1,0 кг. Таблеточную смесь далее подвергали таблетированию на прессе MiniTabT. Масса готовых для нанесения покрытия таблеток составила 0,99 кг, т. е. потери при таблетировании снизились с 10–30 % до 1 %. Далее на полученные таблетки нанесли кишечнорастворимое покрытие на водной основе Acryl-eze до 8 % увеличения массы таблетки.

Проверка качества готовой лекарственной формы холерной химической вакцины с новым составом вспомогательных веществ показала соответствие требованиям фармакопейной статьи предприятия. Вышеизложенное дает основания для внедрения предложенных биотехнологических приемов в производство вакцины.

УДК [579.841.93:579.61:616-078]:60

**Курчева С. А.¹, Старцева О. Л.¹,
Семирчева А. .¹, Криницына Э. В.²**

КОНСТРУИРОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БРУЦЕЛЛЕЗА В НЕПРЯМОМ МЕТОДЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

¹ФКУЗ *Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,*

Ставрополь

²ЗАО *«Вектор-Бест»,*

Новосибирск

Бруцеллез – бактериальная инфекционно-аллергическая болезнь, относящаяся к группе зоонозов и занимающая особое положение среди других инфекционных болезней из-за своеобразия возбудителя. Этиопатогенетические особенности бруцеллеза и определяют большую склонность заболевания к хроническому течению с длительной персистенцией патогена. Фактор времени не играет абсолютной роли в определении формы или

стадии болезни, так, острый процесс может развиваться на фоне латентного бруцеллеза, а хроническое течение болезни – с самого начала процесса. Как правило, после консультации инфекциониста для исключения возможного бруцеллеза кровь пациента тестируют только в реакциях Хеддельсона и Райта, обладающих, по информации ряда авторов, невысокой чувствительностью (35–64 %). Из современных серологических методов диагностики бруцеллеза иммуноферментный анализ (ИФА) является наиболее доступным и распространенным, обладающим высокой чувствительностью и специфичностью.

В ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора в настоящее время разработана и зарегистрирована в Росздравнадзоре тест-система иммуноферментная для выявления антител к возбудителю бруцеллеза «ИФА-Бруцелл-СтавНИПЧИ» в сыворотке крови больных людей, а также подозрительных на заболевание при остром бруцеллезе.

Целью настоящей работы является изучение возможности выявления антител в сыворотках крови людей при хроническом течении бруцеллеза в непрямом методе ИФА (нИФА).

Анализ результатов проведенных исследований позволил сконструировать экспериментальную тест-систему диагностическую для выявления антител к возбудителю бруцеллеза при исследовании сывороток крови людей в нИФА.

В работе использовали иммуноглобулины (IgG) антивидовые против глобулинов человека. В качестве доноров антивидовых IgG были взяты кролики породы «шиншилла» массой 3–3,5 кг. Для гипериммунизации использовали интактные и полимеризованные IgG, выделенные из нормальной сыворотки крови человека, по схеме с применением иммуномодуляторов тималина и циклофосфана, с соблюдением видоидентичности антигенов и вида продуцентов. Первые три инъекции проводили полимеризованными IgG в паховую область, по 0,5 мл каждому кролику, и по 1 мл тималина – внутримышечно. Через 30 дней кроликам-продуцентам трижды вводили внутривенно интактные IgG с концентрацией белка 15 мг/мл. В основу схемы иммунизации положена методика И. С. Тюменцевой (1999).

На 8–9 сутки после последней инъекции проводили пробное взятие крови и определение активности иммунных сывороток методом радиальной иммунодиффузии по О. Оухтерлони (1949). Титр полученных сывороток составлял 1:16–1:32. После производственного кровопускания из сывороток выделяли IgG каприловым методом.

При конструировании пероксидазного конъюгата (КПХ) выбран метод перйодатного окисления по Р. К. Nakane, А. Kawaoi (1974) для ковалентного связывания индикаторного фермента – пероксидазы хрена (тип VI, Rz 3,0 (Serva), с активностью 500 ед) с белковым лигандом.

Для сенсibilизации твердой фазы использо-

вали поливалентный бруцеллезный водорастворимый антиген, извлеченный из бакмасс *Brucella (B.) abortus* 19 ВА, *B. melitensis* Rev-1, *B. suis* 61 по методу Е. Н. Афанасьева (1983).

Чувствительность и специфичность экспериментальных серий антивидового КПХ определяли в ИФА с сыворотками крови от больных и здоровых людей, рабочий титр – по методике М. Clark и А. Adams (1977) в «сэндвич»-варианте ИФА.

Проведены анализы с сыворотками крови людей с различными формами бруцеллеза из рабочей коллекции научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций (г. Ставрополь), а также с положительно и отрицательно реагирующими стандартными панелями и 88 донорскими образцами на базе отделения ИФА гепатита С ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). На основании результатов проведенных анализов был установлен рабочий титр конъюгатов – 1:2500–1:3000.

Сравнительный анализ результатов исследований охарактеризованных сывороток крови больных людей с подтвержденным диагнозом «бруцеллез» и людей с другими заболеваниями неинфекционной и инфекционной этиологии, проведенных с использованием сконструированной тест-системы, показал высокую специфичность и чувствительность препарата, что свидетельствует о необходимости дальнейших разработок, направленных на изучение возможности выявления антител, при хроническом течении бруцеллеза, для диагностики и мониторинговых исследований.

удк 579.61; 57.083.13

Лев И. О., Дунайцев И. А., Клыкова М. В., Жиглецова С. К., Кондрашенко Т. Н.

ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА АНТИФУНГАЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *GEOBACILLUS THERMOGLUCOSIDASIUS*

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора,
п. Оболенск, Московская область

Рост распространенности микотических инфекций в последние десятилетия представляет собой серьезную проблему. По оценкам экспертов, микозами страдает 10–20 % взрослого населения и до 50 % людей в возрастной группе 70 и более лет. Разработка антимикотических препаратов активно ведется в последние десятилетия во многих странах, однако распространенность грибных инфекций не только не уменьшается, но даже возрастает. Большое значение в возникновении грибковых инфекций, осложняющих течение основных

заболеваний, имеет формирование госпитальных штаммов грибов в стационарах различного профиля. Наибольший процент микозов слизистых оболочек и легких диагностируется в онкологических стационарах – до 20–50%, в отделениях трансплантации органов и костного мозга кандидоз желудочно-кишечного тракта встречается у 12–27% больных, у пациентов с гемобластозами смертность от грибковых осложнений достигает 44 %, криптококкоз и кандидоз являются «маркерами» СПИДа в 10–37,5 % случаев, плесневые микозы во фтизиатрических стационарах и в отделениях бронхиальной астмы достигают 35 %. Такое распространение микозов является закономерным следствием в том числе и того, что микрофлора, обитающая в зданиях, адаптируется в новых экологических нишах. Так, например, *Candida albicans*, наиболее частый возбудитель кандидозов, обнаруживается в системах кондиционирования. Борьба с подобными очагами инфекций является одной из основных задач обеспечения профилактики заболеваний. Использование для этих целей природных непатогенных штаммов микроорганизмов и их нетоксичных метаболитов обеспечивает такому подходу биологическую и экологическую безопасность.

В связи с этим все больший интерес представляют грамположительные спорообразующие бактерии семейства *Bacillaceae*, способные синтезировать широкий спектр разнообразных соединений и хорошо зарекомендовавшие себя как технологичные промышленные продуценты. В практическом здравоохранении все шире находят применение препараты на основе живых культур бактерий и их метаболитов, которые способны контролировать болезни человека и животных.

В отделе биологических технологий ФБУН ГНЦ ПМБ накоплен опыт разработки антимикробных препаратов и создана рабочая коллекция микроорганизмов, выделенных из различных конкурентных экологических ниш, в том числе из бедных минеральных пород, ризосферной зоны растений, где особенно велика доля микроорганизмов-антагонистов. Уже первичный скрининг активности таких микроорганизмов в отношении широкого спектра бактериальных и грибных патогенов показал перспективность селекции промышленно значимых продуцентов и создания препаратов с использованием факторов их активности. В результате проведенных исследований нами был отобран штамм *Geobacillus thermoglucosidarius*, активный в отношении широкого спектра грибных и бактериальных патогенов.

Целью настоящей работы являлся поиск состава среды и оптимальных условий культивирования для максимального синтеза антифунгальных метаболитов *G. thermoglucosidarius*.

Материалы и методы. В качестве продуцента антифунгальных метаболитов в работе использовался термофильный штамм *Geobacillus thermoglucosidarius*, выделенный из пробы почвы,

отобранной на южном склоне Кавказского хребта.

Для определения антифунгальной активности штамма *G. thermoglucosidasius* использовали штамм *Candida albicans* 1710 из коллекции ФБУН ГНЦПМБ «ГКПМ-Оболенск».

Супрессивную активность фильтратов культуральной жидкости (КЖ) *G. thermoglucosidasius* в отношении грибного патогена проверяли методом лунок на картофельно-глюкозном агаре. Фильтраты готовили центрифугированием пробы КЖ при 10 000 об/мин и последующим фильтрованием надосадочной жидкости через стерилизующий фильтр с диаметром пор 0,22 мкм.

При определении источника углерода использовалась основа синтетической питательной среды следующего состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 3,0; K_2HPO_4 – 0,014; MgSO_4 – 0,004; раствор микроэлементов – 0,2 мл. Состав раствора микроэлементов (мг/л): CuSO_4 – 20,0; MnSO_4 – 20,0; ZnSO_4 – 10,0; FeSO_4 – 10,0.

При определении источника азота использовалась следующая основа синтетической питательной среды (г/л): глюкоза – 5,0; K_2HPO_4 – 0,14; MgSO_4 – 0,04; раствор микроэлементов – 0,2 мл/л.

Культивирование штамма *G. thermoglucosidasius* при оптимизации состава среды проводили во встряхиваемых колбах при температуре 37 °С и скорости вращения 180 об/мин.

При выращивании биомассы культуры *G. thermoglucosidasius* в ферментере использовали аппарат Sartorius Biostat В+ с рабочим объемом среды до 9 л. Массообмен обеспечивали аэрацией воздухом – до 2 л/л*мин и перемешиванием турбинной мешалкой – до 800 об/мин. Состав среды при культивировании в ферментере (г/л): глюкоза – 5,0; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 3,0; K_2HPO_4 – 0,14; MgSO_4 – 0,04; раствор микроэлементов – 0,2 л. В качестве инокулята использовали суточную культуру *G. thermoglucosidasius*, полученную во встряхиваемых колбах в количестве 5 % к рабочему объему ферментера.

Результаты исследования. Оптимизацию состава среды культивирования проводили в несколько этапов. В качестве источника углерода и энергии в синтетической среде исследовали глюкозу, глицерин, мелассу, сахарозу, парафин и лактозу в концентрациях 5,0 и 2,5 г/л. Самая высокая активность была зафиксирована на мелассе и глюкозе в концентрации 5 г/л. Диаметр зон подавления *C. albicans* составлял 14 мм.

Следующим этапом оптимизации являлся подбор источника азота. Были протестированы следующие компоненты (г/л): ферментативный пептон (Оболенск, Россия) – 3,0; гидролизат рыбной муки (Оболенск, Россия) – 3,7; казеин (Himedia, Индия) – 2,3; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 3,0. Супрессивная активность по отношению к *C. albicans* была зафиксирована во всех случаях, однако наибольшие зоны подавления (14 мм) наблюдались при выращивании на минеральной среде состава (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 3,0;

глюкоза – 5,0; K_2HPO_4 – 0,14; MgSO_4 – 0,04; раствор микроэлементов – 0,2 мл.

Поскольку из литературных данных известно, что для оптимального роста *G. thermoglucosidasius* требуется температура в диапазоне 37–68 °С, при оптимизации условий культивирования исследовали температуры 30, 40 и 50 °С, с использованием среды подобранного состава (г/л): глюкоза – 5,0; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 3,0; K_2HPO_4 0,14; MgSO_4 – 0,04; раствор микроэлементов – 0,2 мл. При температуре 40 °С были отмечены наиболее высокие значения скорости роста биомассы и антифунгальной активности: зоны подавления составляли 14 мм; при 30 °С они составляли 8–9 мм, а при 50 °С – 2–3 мм.

На основе полученных данных о составе среды и условиях культивирования проведено выращивание культуры *G. thermoglucosidasius* в ферментере в течение 24 часов при 37 °С, с отбором проб КЖ каждые 4 часа, начиная с 6 часов роста. Фунгицидная активность КЖ росла с первой пробы, и наибольшее значение было отмечено после 14 часов роста – 14 мм зона подавления *C. albicans*, после чего активность равномерно снижалась до 5 мм к 24 часам роста. По-видимому, максимальный синтез антифунгальных метаболитов на ранних стадиях развития культуры обусловлен необходимостью проявления антагонистических свойств в природе – в конкурентной борьбе за субстрат.

Таким образом, на основании проведенных исследований предложен оптимальный состав среды и условия для максимального синтеза антимикотических веществ штаммом *G. thermoglucosidasius*.

УДК 615.33+60

**Михайлова М. Е., Ковалев Д. А.,
Пономаренко Д. Г.**

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ НИОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ОФЛОКСАЦИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БИОПРОБНЫХ ЖИВОТНЫХ

*ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь*

Исследование влияния микро- и наноматериалов, к которым можно отнести и ниосомы, на метаболические процессы организма человека и животных, изучение их биосовместимости являются актуальными задачами современной биологии и медицины.

Необходимость разработки систем регулируемой доставки лекарственных средств, в особенности антибактериальных препаратов, обусловлено их явным преимуществом перед антибиотиками в стандартизированных лекарственных формах. Так, использование микрокапсулирования актив-

ной субстанции препарата будет обеспечивать постоянство концентрации и фармакокинетики лекарственного средства при низкой курсовой дозе препарата, что предупреждает негативные побочные реакции антибиотикотерапии.

Офлоксацин – противомикробный препарат из группы фторхинолонов широкого спектра действия. Известно, что особую актуальность имеет применение офлоксацина для лечения сепсиса, туберкулеза и других опасных инфекционных болезней, в том числе связанных с внутриклеточной персистенцией возбудителей.

Разработка новой ниосомальной формы офлоксацина может позволить защитить действующее вещество от ферментативной деструкции при введении *per os*, снизить токсические эффекты при его применении за счет уменьшения дозировки препарата, а также – обеспечить пролонгированное действие лекарственной субстанции в составе ниосом, которые могут играть роль резервуара, контролирующего высвобождение препарата в организме.

Целью работы явилось изучение влияния ниосомальной формы офлоксацина на микроморфологию органов экспериментальных биомоделей.

В качестве средства иммобилизации офлоксацина в работе были использованы ниосомы, включавшие сорбитан моностерат Span 60, холестерин, полиэтиленгликоль ПЭГ-4000 и дицетилфосфат в молярном соотношении 7:4:0,2:1. Ниосомальную форму офлоксацина получали методом обращенно-фазовой отгонки, описанным ранее.

В эксперименте белым мышам пятикратно *per os* вводили включенный в ниосомы антибиотик (однократная доза составляла 0,16 мг офлоксацина). На 1, 4, 7, 14, 21 и 30 сутки после последней дачи препарата производили умерщвление лабораторных животных хлороформированием – по 10 особей из каждой группы – и взятие органов с целью их гистологического исследования (печень, почки, сердце, селезенка, желудок, тонкий и толстый кишечник). Фиксацию кусочков органов осуществляли в 10 % нейтральном формалине с последующей заливкой в парафин. После приготовления гистологических срезов толщиной 5 мкм выполняли окраску гематоксилином Майера и эозинном по общепринятой методике.

Морфологические изменения в паренхиматозных органах группы биомоделей, получавших антибиотик в ниосомальной форме, через сутки после пятикратного введения характеризовались сосудистой реакцией в виде обильного кровенаполнения органов. При гистологическом исследовании желудка выявлена гиперемия, незначительное усиление десквамативных процессов в апикальной части слизистой оболочки. В кишечнике не установлено видимых патологических изменений.

На 4 сутки после пятикратного введения ниосомального препарата у лабораторных животных установлена гиперемия печени. В остальных исследуемых паренхиматозных органах, а также же-

лудке и кишечнике не выявлено видимых патологических морфофункциональных изменений.

При изучении архитектоники исследуемых органов у экспериментальных биомоделей на 7 сутки после введения офлоксацина, заключенного в ниосомы, патогистологических изменений не выявлено.

Таким образом, у животных, которым вводили офлоксацин, заключенный в ниосомы, через сутки после пятикратного введения лекарственного средства установлены транзиторные изменения, имеющие преимущественно компенсаторно-приспособительный характер. В последующие сроки исследования (4, 7, 14, 21, 30 сутки) патоморфологических изменений внутренних органов не выявлено.

Использование ниосомальной формы офлоксацина может способствовать выраженному снижению негативного (побочного) влияния антибиотикотерапии на организм, что, по нашему мнению, обусловлено экранирующей способностью используемых микровезикул.

УДК 616.98:579.852.11

Попова П. Ю., Семакова А. П.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ *IN VITRO* ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИБИРЕЯЗВЕННЫХ ВАКЦИН – КОНСТРУИРОВАНИЕ БЕЗОПАСНОГО ПРОДУЦЕНТА СУБЪЕДИНИЦЫ ЛЕТАЛЬНОГО ТОКСИНА

*ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»
Роспотребнадзора,
Саратов*

В Российской Федерации насчитывается несколько тысяч стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов. Несмотря на достаточно эффективные противоэпидемические и профилактические мероприятия, ежегодно регистрируются случаи инфицирования людей особо опасным патогеном. Одним из основных факторов поддержания санитарно-эпидемического благополучия по сибирской язве является вакцинация лиц, входящих в группы риска.

Оценку иммунологической эффективности лицензированных и разрабатываемых сибиреязвенных вакцин осуществляют в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. В качестве «золотого стандарта» выступает тест определения титра токсин-нейтрализующих антител (TNA, toxin neutralization assay). В основу данного метода положена способность сывороточных антител к протективному антигену

нейтрализовать комплекс протективного антигена с летальным фактором. Показатели титров токсин-нейтрализующих антител наиболее точно коррелируют с протективностью препаратов для специфической профилактики сибирской язвы. Указанный тест широко используют в проведении доклинических испытаний разрабатываемых вакцин, для определения качества лицензированных вакцин в процессе производства и хранения. Преимущество данного метода заключается в возможности избежать заражения экспериментальных животных вирулентными споровыми культурами *B. anthracis*, в независимости результатов от вида биомодели, в высокой воспроизводимости. Важно, что определение титра токсин-нейтрализующих антител является основным способом оценки напряженности иммунитета при клинических испытаниях сибиреязвенных вакцин.

Для постановки теста используют монослой чувствительных к летальному токсину клеток, чаще всего мышинные макрофагальные линии J774A и RAW264. К клеточному слою, в присутствии раститрованной иммунной сыворотки, добавляются оптимально подобранные концентрации составных частей летального токсина – протективного антигена и летального фактора. В нашем арсенале имеется один из необходимых компонентов для осуществления методики – очищенный и охарактеризованный рекомбинантный протективный антиген, выделенный из аспорогенного генно-инженерного штамма *B. anthracis* 55ΔТПА-1(Spo⁻). С целью получения очищенного белка летального фактора проведены эксперименты по конструированию рекомбинантного штамма *E. coli* с клонированным геном *lef*, кодирующим его синтез.

В программе Vector NTI были рассчитаны праймеры на последовательности полноразмерного гена *lef* (2,3 т.п.н.), кодирующего летальный фактор *B. anthracis*. Олигонуклеотидные праймеры синтезировали в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» на автоматическом синтезаторе ДНК «АСМ-800» (Биосет, Россия). В качестве матрицы в ПЦР использовали ДНК, полученную стандартным способом из штамма *B. anthracis*. Амплификацию гена *lef* проводили по схеме: один цикл, при 95 °С – в течение 5 мин, 35 циклов, при 95 °С – 30 сек, 48 °С – 30 сек, 72 °С – 3 мин, и завершающий цикл – 10 мин, при 72 °С. После этого реакционную смесь осаждали этанолом и очищали. Амплифицированную ДНК без обработки ферментами рестрикции лигировали в векторную плазмиду pET151/D-ТОРО (Invivogen), поставляемую фирмой-производителем в линейной форме. Сконструированной плазмидой трансформировали компетентные клетки *E. coli* TOP 10. Селекцию трансформантов осуществляли на среде с ампициллином. Наличие в рекомбинантной плазмиде детерминаты синтеза летального фактора определяли на основании результатов ПЦР с праймерами на полноразмерный ген *lef* или его фрагмент. Из изолированных трансформантов вы-

деляли плазмидную ДНК, очищали с использованием коммерческого набора и трансформировали в компетентные клетки экспрессирующих штаммов *E. coli* BL21(DE3) или *E. coli* BL21(DE3)pLysS. Отбор проводили по маркеру резистентности к ампициллину.

Очистку целевого белка из клеточных лизатов трансформантов проводили с использованием коммерческого набора ProBond™ Purification System (Invitrogen). Принцип очистки основан на избирательном связывании шести остатков гистидина рекомбинантного протеина никель-хелатным сорбентом методом колоночной хроматографии. Связывание белка с носителем проводили по инструкции фирмы-производителя. Элюэнт исследовали электрофоретическим методом, определяя наличие протеина молекулярной массой 85 кДа. Установлено, что трансформанты на основе *E. coli* BL21(DE3)pLysS синтезируют белок с электрофоретической подвижностью, соответствующей летальному фактору сибиреязвенного микроба. Синтезируемый продукт охарактеризован по молекулярной массе и сродству к специфичным антителам со специфичными антителами в иммуноферментном анализе.

Таким образом, на основе штамма *E. coli* BL21(DE3)pLysS сконструирован биологически безопасный продуцент субъединицы летального токсина. Из штамма-продуцента, содержащего плазмиду с клонированным полноразмерным геном летального фактора, получен целевой белок. Летальный фактор планируется использовать в иммунохимических реакциях, позволяющих оценивать *in vitro* иммуногенные свойства сибиреязвенных вакцин.

УДК: 579.843.1:616-078(470+571)

**Селянская Н. А., Кирилова О. Д.,
Веркина Л. М.**

АКТИВНОСТЬ ФТОРХИНОЛОНОВ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ НЕ О1/НЕ О139 СЕРОГРУПП, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЛЮДЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

*ФГУЗ Ростовский-на-Дону
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону*

Фторхинолоны занимают важное место в арсенале средств этиотропной терапии холеры. Холерные вибрионы не О1/ не О139 серогрупп также проявляют чувствительность к этой группе препаратов (Т. H.Saleh et al, 2011; Y. Luo et al, 2013; N. George et al, 2013). Об эффективности ципроф-

локсацина – представителя фторхинолонов II поколения – при септических состояниях у людей, вызванных *Vibrio cholerae non O1/ non O139*, сообщает ряд авторов (А. М. L. Anderson et al., 2004; I. Štrumbelj et al., 2005; D. Restrepo et al., 2006). В то же время в зарубежной литературе есть сообщения о выделении от больных и из окружающей среды штаммов *V. cholerae non O1/ non O139*, устойчивых к налидиксовой кислоте и фторхинолонам (R. Feghali, S. M. Adib, 2011; D Ramamurthy, 2013; Y. Luo et al., 2013; Y. Zhou et al., 2013).

Несмотря на то что сообщения о выделении культур, устойчивых к фторхинолонам, достаточно редки, появление таких штаммов *V. cholerae non O1/ non O139* с сопутствующей множественной лекарственной устойчивостью значительно осложняет этиотропную терапию инфекций, вызываемых этой группой микроорганизмов, тем более что некоторые из них могут представлять эпидемическую опасность (Е. В. Монахова и др., 2010).

Это делает необходимым изучение чувствительности к фторхинолонам штаммов не O1/ не O139, выделяемых на территории России. Вызывают также интерес частота возникновения мутаций этих микроорганизмов к фторхинолонорезистентности и влияние приобретенной устойчивости на исход этиотропной терапии.

Цель исследования. Изучить чувствительность к фторхинолонам штаммов *V. cholerae non O1/ non O139*, выделенных в России. Оценить частоту возникновения фторхинолонорезистентности. Определить эффективность фторхинолонов при инфекции у белых мышей, вызванной антибиотикочувствительным штаммом не O1/не O139 серогрупп и его вариантами, устойчивыми к налидиксовой кислоте и фторхинолонам.

Материалы и методы. Штаммы. Из музея живых культур ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» были взяты 156 штаммов *V. cholerae non O1/ non O139 (ctxtcp)*, выделенных в России в 1968 – 2012 гг., из клинического материала (134) и из объектов окружающей среды (22). Антибиотикочувствительные штаммы *V. cholerae O1 P-5879 ctx⁺ tcp⁺* и *non O1/ non O139 P-9741 (KM-162)* служили в качестве контроля. Для получения антибиотикорезистентных мутантов и в опытах *in vivo* использовали штамм *V. cholerae non O1/ non O139 16150*.

Антибактериальные препараты: налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин.

Чувствительность/устойчивость к антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде Мюллера-Хинтона (посевная доза $\times 10^5$ КОЕ). Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 (2009).

Для получения мутантов холерного вибриона, устойчивых к хинолонам, суспензию

16–18-часовой агаровой культуры (37 °С) холерного вибриона высевали на пластины агара Хоттингера рН $7,1 \pm 0,1$ с концентрацией налидиксовой кислоты – 25,0–50,0 мг/л, фторхинолонов – 0,1 мг/л. Частоту мутаций к антибиотикорезистентности подсчитывали отношением числа мутантов, выросших на среде с антибиотиком, к общему числу живых бактерий, использованных для посева.

Для оценки эффективности антибактериальных препаратов *in vivo* использовали модель генерализованной формы инфекции на беспородных белых мышках, которых заражали внутрибрюшинно взвесью 18-часовой агаровой культуры (37 °) холерного вибриона в 0,3 % агаризованном 0,9 % растворе хлорида натрия в дозе 10^8 м.к.л. в объеме 0,2 мл (Е. И. Коробкова, 1959; R. Pollitzer, 1959; А. Е. Либинзон и др., 1974). Антибиотики вводили сразу после инфицирования. Курс терапии составлял 3 дня (один раз в сутки). За животными наблюдали 10 дней. Проводили бактериологический контроль заражения и эффективности лечения. Опыт учитывали при 100 % гибели контрольных (нелеченных) животных. Дозы препаратов рассчитывали по формуле J. E. Paget, J. M. Barnes (1964), исходя из среднесуточных человекодоз. Статистическую обработку данных по сравнительному изучению эффективности антибактериальных препаратов проводили по таблице А. Я. Боярского (1955).

Результаты. Среди штаммов *V. cholerae non O1/ non O139*, выделенных в России от людей, не обнаружено устойчивых к налидиксовой кислоте или фторхинолонам. МПК препаратов составляло 1,0–4,0 мг/л и 0,01–0,5 мг/л соответственно.

Штаммы, выделенные из объектов окружающей среды, были чувствительны к фторхинолонам (МПК=0,06–0,125 мг/л). Однако у 2 культур из 9 (1,3–29 %) выявлена устойчивость к налидиксовой кислоте (МПК=16,0 мг/л, что вызывает тревогу, т. к. резистентность к этому препарату может сопровождаться повышением значений МПК фторхинолонов и приводить к снижению или утрате их эффективности (Н. А. Дудина и др., 2003).

Частота мутации к налидиксовой кислоте (Nal^r) штамма *V. cholerae non O1/ non O139 16150* составила 10^{-9} – 10^{-8} , а к цiproфлоксацину (Cpf^r) – мутанты были получены только методом многократных повышающихся концентраций.

Значения МПК налидиксовой кислоты для Nal^r мутантов составили 64,0–128,0 мг/л с повышением значений МПК фторхинолонов в 4–80 раз (МПК=0,01–0,25 мг/л), не достигающих величин, позволяющих отнести их к разряду устойчивых.

Экспериментально полученные Cpf^r мутанты имели значения МПК налидиксовой кислоты 128,0–256,0 мг/л, что соответствует устойчивости, и резистентность ко всем фторхинолонам, взятым в исследование (МПК=1,0–4,0 мг/л), что свидетельствует о наличии перекрестной устойчивости.

Сравнительная оценка эффективности фторхинолонов на модели генерализованной формы

инфекции у белых мышей, вызванной антибиотикочувствительным штаммом *V. cholerae non O1/non O139 16150*, показала эффективность налидиксовой кислоты, ципрофлоксацина, офлоксацина, пефлоксацина, ломефлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина (более 70 % выживших животных). При инфекции, вызванной NaI^r мутантами, отсутствовала эффективность налидиксовой кислоты и фторхинолонов, хотя значения МПК последних соответствовали чувствительности. Crpf^r мутанты вызывали у белых мышей инфекционный процесс, отмечалась неэффективность указанных антибиотиков (0–30 % выживших животных).

Заключение. Эффективность фторхинолонов *in vivo* в отношении чувствительных к ним штаммов *V. cholerae non O1/non O139*, отсутствие культур, устойчивых к налидиксовой кислоте и фторхинолонам среди штаммов этих микроорганизмов, выделенных в России от людей в период с 1968 по 2012 г., свидетельствует о перспективности использования этих препаратов для лечения инфекций различной локализации, вызванных холерными вибрионами не O1 / не O139 серогрупп. Сообщения о случаях выделения за рубежом устойчивых к налидиксовой кислоте и фторхинолонам штаммов, выделение таких культур на территории России из объектов внешней среды вызывает необходимость постоянного изучения антибиотикограмм, выделенных от больных культур, для адекватного выбора средств экстренной профилактики и лечения заболеваний, вызываемых вибрионами не O1/ не O139 серогрупп. Недопустима монотерапия налидиксовой кислотой, т. к. возникновение устойчивости к этому препарату может вызывать неэффективность фторхинолонов.

УДК[615.373.012.6:579.842.23.063.8.233]:601.2

Семирчева А. А., Курчева С. А.,
Старцева О. Л., Жданова Е. В.

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ КАПСУЛЬНЫХ И БЕСКАПСУЛЬНЫХ ШТАММОВ *Y. PESTIS*

ФКУЗ Ставропольский противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Проблема лабораторного обеспечения диагностики чумы, получение надежной и оперативной информации об эпизоотологической и эпидемиологической обстановке в природных очагах этой инфекции остаются чрезвычайно актуальными. Особая роль в наборе лабораторных методов принадлежит экспрессным методам диагностики,

адаптированным для прямого исследования самых разнообразных объектов биотической и абиотической природы.

Основные диагностические препараты для серологической диагностики чумы до настоящего времени сконструированы при использовании в качестве сенситина специфического капсульного антигена *Y. pestis*, названного «фракция I», и антиген к нему. Многолетняя практика исследований возбудителя показала существование в природе и у больных людей вариантов чумного микроба, лишенных антигена FI (Meka-Mechenko T., 2002). Приведенные данные позволяют сделать заключение, что конструирование диагностических препаратов, ориентированных на выявление как типичных, так и дефектных по фракции I штаммов чумного микроба, является перспективным и актуальным.

Цель исследования: разработка технологии получения высокоспецифичной поливалентной гипериммунной сыворотки против антигенов типичных и дефектных по синтезу FI штаммов чумного микроба.

При получении поливалентной чумной гипериммунной сыворотки использовали ряд антигенов: фракцию I чумного микроба как одну из важных составляющих, полученную по методу E. E. Baker (1952) из штамма *Y. pestis EV*, выращенного при 37 °С; белково-липополисахаридный комплекс (БЛП), при получении которого за основу применили методику М. М. Титенко (1985); водно-солевой экстракт (ВрАг) из афракционного штамма *Y. pestis EV*, в котором, по мнению ряда исследователей, обнаруживаются в тех или иных количествах все выявленные у чумного микроба антигены.

Для получения бивалентной чумной антисыворотки мы применили разработанную Е. Н. Афанасьевым с соавт. (2010) схему иммунизации кроликов с тималином и циклофосфаном, при этом варьировали составом полигруппового антигена.

При использовании комплексного антигена, состоящего из FI, БЛП и ВрАг, были получены бивалентные сыворотки, у которых титры специфических антител, оцененные в непрямой реакции иммунофлуоресценции (НРИФ) на фракционных и афракционных штаммах *Y. pestis*, были не ниже 1:24576±2744,32, практически у 100 % взятых в эксперимент животных, а в реакции радиальной иммунодиффузии иммунный ответ наблюдался на все составляющие комплексного антигена.

Проверка специфичности полученных бивалентных сывороток на гетерологичных штаммах различных микроорганизмов показала, что перекрестные реакции в НРИФ отсутствуют практически со всеми взятыми штаммами (*E. coli*, *Y. enterocolitica*, *F. tularensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis*, *Salmonella*, *Shigella*), за исключением III серовара *Y. pseudotuberculosis*.

Для удаления перекрестно реагирующих анти-

тел путем контакта с антигенами, которые обладают общими с индуцирующим антигеном детерминантами, проведена сорбция гипериммунных сывороток алюмосиликатным антигенным магноиммуносорбентом (Жарникова И. В., 2004), белковым лигандом при этом служил водно-солевой экстракт из штамма *Y. pseudotuberculosis* III серовара.

Таким образом, нами отработаны методики и получена чумная гипериммунная поливалентная высокоспецифичная сыворотка, которая отвечает критериям оценки ее как сырья для дальнейшего конструирования иммунобиологических препаратов для экспрессных методов одномоментного выявления типичных и дефектных по синтезу антигена F1 штаммов *Y. pestis*.

V. АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНЫ ТРУДА И ОЦЕНКИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ

УДК 614.7

Ахтямова Л. А., Айзатуллин А. А.,
Ишмухаметова Э. Р., Бочаров Е. П.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ВЫБРОСОВ ОАО «КАМАЗ»

*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)»,
ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России,
Казань*

Группа компаний «КамАЗ» – крупнейшая автомобильная корпорация Российской Федерации. Основным видом деятельности ОАО «КамАЗ» является производство грузовой техники: грузовые автомобили, прицепы, автобусы, тракторы, двигатели, силовые агрегаты комплектующих к грузовым автомобилям.

Промышленный узел ОАО «КамАЗ» расположен в юго-восточной части г. Набережные Челны Республики Татарстан. Набережные Челны – город республиканского подчинения, 35-й по численности населения в России, второй по численности населения и значимости город Татарстана. Население города составляет 518500 чел. Камский автомобильный завод является градообразующим предприятием, на долю которого приходится почти три четверти объема промышленной продукции, произведенной в г. Набережные Челны.

С северо-запада от территории промышленного узла, на расстоянии 780 м, находятся жилые кварталы г. Набережные Челны. С северо-востока, на расстоянии 2600 м, – д. Азьмушкино. С востока, на расстоянии 1500 м, – д. Старые Гардали. С юга, на расстоянии 560 м, расположены садовые общества.

Цель работы: оценка риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, содержащихся в выбросах промышленного узла ОАО «КамАЗ».

Согласно СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов. Новая редакция» (с изм. 1,2,3,4) 1 объект промышленного узла ОАО «КамАЗ» относится к первому классу опасности, 6 предприятий – ко второму, 1 объект – к третьему, остальные – к 4 классу опасности.

В зоне влияния выбросов промышленного узла ОАО «КамАЗ» сконцентрированы и другие крупные предприятия города: филиал ОАО «Генерирующая компания Набережночелнинская ТЭЦ», ОАО «ТЭФ КАМА Транссервис», выбросы кото-

рых при выполнении данной работы использованы в качестве фонового загрязнения атмосферного воздуха.

Инвентаризация источников загрязнения и их выбросов в атмосферный воздух промышленного узла ОАО «КамАЗ» составлена с учетом требований «Методического пособия по расчету, нормированию и контролю выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух» (Интеграл, СПб. 2005 г.), а также с учетом генерального плана предприятия и проектной мощности. Сведения о качественном и количественном составе выбросов ОАО «КамАЗ», описание технологических процессов на предприятии в достаточном для исследования объеме использованы из действующего проекта ПДВ (2013 г.). Все содержащиеся в исходных данных вещества идентифицированы по названиям, кодам выбросов и номерам CAS. Общее количество источников выбросов загрязняющих веществ от основного общества и группы предприятий ОАО «КамАЗ» – 1938, которые выбрасывают в атмосферу 148 наименований загрязняющих веществ в количестве 919,52 г/с и 10744,64 т/год.

Из общего количества загрязняющих веществ к I классу опасности (чрезвычайно опасные) относятся 7,4 % всех веществ, ко II классу (высокоопасные вещества) – 19,6 %, к III классу (умеренно опасные) – 27,0 %, к IV классу (малоопасные) – 12,8 %. Для 48 веществ (32,4 %) классы опасности не определены, т. к. пронормированы по ОБУВ.

Методы исследования.

Оценка риска проводилась в соответствии с Руководством 2.1.10.1920-04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду». На этапе идентификации опасности на основании результатов ранжирования выбросов промышленного узла ОАО «КамАЗ» обоснован список приоритетных химических веществ, включенных в последующую оценку риска. Оценка канцерогенного риска проводилась по 19 веществам, неканцерогенного риска – по 37 веществам. Также проведена оценка риска от воздействия суммы взвешенных частиц (TSP, PM10, PM2,5).

Учитывая цель исследования, за основу сценария был принят сценарий жилой зоны, при котором рассматривается хроническое (пожизненное) воздействие. Это предполагает оценку воздействия на жителей, постоянно проживающих в рассматриваемой местности, без учета дополнительной экспозиции вредных веществ в процессе трудовой деятельности. На основании выводов, сделанных при идентификации опасности, анализируемой средой определен атмосферный воздух, а путем поступления химических веществ в организм человека – ингаляционный. Для определения осредненных за длительный период концентраций загрязняю-

щих веществ в атмосферном воздухе использовался расчетный блок «Средние» УПРЗА «Эколог» 3.0. При проведении моделирования рассеивания выбросов от источников ОАО «КамАЗ» использовалась расчетная сетка с шагом по осям X и Y в 100 м. Полный расчет рассеивания произведен по узлам расчетной сетки с учетом всей зоны влияния выбросов предприятия. Выбранная расчетная площадка размером 10500×10000 м охватила ближайшую жилую застройку (г. Набережные Челны, д. Азымушкино и д. Старые Гардали), а также садовые участки. Для учёта климатических условий использовался метеофайл с данными о метеорологических условиях г. Набережные Челны. Ветровой режим района характеризуется преобладанием ветров юго-западного (30 %) и южного (22 %) направлений.

Выполнены расчеты рисков для здоровья населения, обусловленные приоритетными химическими веществами от источников изучаемой промплощадки предприятия без учета и с учетом выбросов фонообразующих промышленных объектов. Оценено суммарное воздействие загрязняющих веществ с учетом органов-мишеней для приоритетных веществ. Выполнен анализ показателей состояния здоровья населения г. Набережные Челны.

Результаты исследования.

Расчетные приземные концентрации на границе СЗЗ, в жилой зоне, на территории садов, обусловленные выбросами источников промплощадки предприятия, не превышают соответствующие ПДК_{сс} в пределах расчетной сетки по всем веществам.

В жилой зоне и на территории на садовых участках ведущее место в формировании индивидуальных канцерогенных рисков с учетом и без учета выбросов фонообразующих объектов занимают хром шестивалентный (СР до $2,6 \times 10^{-5}$), пыль асбестосодержащая (СР до $6,7 \times 10^{-6}$) и сажа (до $1,73 \times 10^{-6}$). Вклад выбросов промузла ОАО «КамАЗ» в значения канцерогенных рисков около 90 %, но при этом не превышают предельно-допустимые уровни (1×10^{-6} – 1×10^{-4}). Предельно-допустимые уровни индивидуального канцерогенного риска подлежат постоянному контролю. От воздействия остальных канцерогенов значения индивидуального канцерогенного риска находятся на приемлемом уровне и не требуют каких-либо корректирующих действий.

Суммарный индивидуальный канцерогенный риск по всей расчетной области селитебной территории формируется в диапазоне 1×10^{-5} – $3,2 \times 10^{-5}$. До 75 % среднего значения суммарного канцерогенного риска в жилой зоне обусловлено выбросом хрома (VI), до 14 % – пыли асбестосодержащей, до 4 % – сажи, до 3,3 % – формальдегида. Данные уровни суммарного канцерогенного риска подлежат постоянному контролю с целью возможной разработки дополнительных мероприятий по их снижению.

Величины популяционного канцерогенного риска (PCR) составили: в г. Набережные Челны – 0,24; дер. Азымушкино – 0,00009, дер. Старые Гардали – 0,00006 дополнительных случаев в год.

Результаты оценки хронического неканцерогенного риска показывают, что значения коэффициентов опасности (HQ) по всем приоритетным соединениям находятся на допустимом уровне на всей селитебной территории с учетом выбросов ИЗА соседних объектов. Наибольшие значения рисков за счет выбросов источников промышленного узла ОАО «КамАЗ» формируются от воздействия марганца и его соединений (HQ до 0,21), масла минерального нефтяного (HQ до 0,09), керосина (HQ до 0,07), но нигде не превышают допустимого уровня (HQ ≤ 1). Неканцерогенный риск от взвешенных частиц TSP, PM10 и PM2,5 в жилой зоне также соответствует предельно-допустимому уровню (HQ ≤ 1).

Расчёты индексов опасности (HI) с учетом выбросов ИЗА соседних объектов указывают на допустимую вероятность развития хронических эффектов со стороны рассматриваемых органов и систем. На 99–100 % значения неканцерогенных рисков обусловлены выбросами промышленного узла ОАО «КАМАЗ». Наиболее подверженными к неблагоприятному хроническому воздействию являются органы дыхания (HI до 0,71).

Таким образом, коэффициенты опасности (HQ) и суммарный риск (HI) в жилой зоне, на территории садовых участков, обусловленные как выбросами источников предприятия, так и с учетом выбросов ИЗА соседних объектов, находятся на допустимом уровне со всех сторон.

Общая заболеваемость взрослого населения г. Набережные Челны не превышает средние значения по Республике Татарстан и характеризуется отрицательной динамикой с 2006 года. Ведущими нозологическими формами в общей структуре заболеваемости являются болезни органов дыхания, травмы и отравления, болезни мочеполовой системы, беременность, роды и послеродовый период. Рост показателей заболеваемости характерен для болезней глаз, крови и органов кроветворения, системы кровообращения. Наблюдается стабильный уровень заболеваний органов дыхания.

Заболеваемость детского населения г. Набережные Челны также не превышает средние значения по Республике Татарстан и выросла за период 2002–2012 гг. на 35 %. Ведущие нозологические формы: болезни органов дыхания, травмы и отравления, инфекционные заболевания, болезни органов пищеварения, глаз и т. д. Обращает на себя внимание рост уровня врожденных пороков развития (более чем в три раза), заболеваний крови и органов кроветворения (на 66 %) за наблюдаемый период.

Выводы.

Учитывая, что в данном исследовании максимально учтены все основные источники выбро-

сов загрязняющих веществ в атмосферный воздух г. Набережные Челны, промузел ОАО «КамАЗ», вклад которого в суммарные уровни канцерогенного и неканцерогенного рисков составляет более 90 %, является ведущим источником формирования рисков для здоровья населения г. Набережные Челны. Уровни канцерогенного риска по хрому шестивалентному подлежат постоянному контролю. Канцерогенный риск от пыли асбестосодержащей был устранен в ходе выполнения работы за счет замены предприятием данного материала на альтернативный, неканцерогенный и менее токсичный. Уровни неканцерогенного риска при хроническом ингаляционном воздействии 37 приоритетных веществ во всех точках воздействия/рецепторных точках без учета и с учетом выбросов фонообразующих предприятий ниже допустимого значения.

УДК 678.6/7:613.62

**Бадамшина Г. Г., Каримова Л. К.,
Тимашева Г. В., Валеева О. В.**

ОЦЕНКА РИСКА УСЛОВИЙ ТРУДА КАК МЕХАНИЗМ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У РАБОТНИКОВ ПРОИЗВОДСТВА СИНТЕТИЧЕСКИХ СМОЛ

*ФБУН Уфимский НИИ медицины труда
и экологии человека,
Уфа*

К числу базовых отраслей российской экономики, определяющих уровень научно-технического прогресса страны, относится нефтехимическая промышленность, выпускающая синтетические материалы и изделия на основе продуктов переработки нефти. Общность сырьевой базы, единство и последовательность химических процессов, с одной стороны, и многообразие химических соединений и процессов, используемых для получения различных видов продукции, – с другой, формирует специфические особенности конкретных производств.

Нефтехимическая отрасль занимает одно из основных мест по потенциальной опасности химического воздействия. Устойчивое развитие в Российской Федерации предприятий нефтехимического комплекса приводит к увеличению численности работников данных предприятий, подвергающихся вредным воздействиям со стороны производственных факторов, которые при определенной длительности и интенсивности воздействия способны вызывать патологические изменения, вплоть до развития нозологических форм профессиональных заболеваний.

Цель работы: на основе комплексных клинико-гигиенических исследований провести оценку профессионального риска нарушений состояния здоровья у работающих в производстве синтетических смол.

Были проведены комплексные клинико-гигиенические исследования на предприятии по производству синтетических смол ОАО «Нижнекамскнефтехим» в Республике Татарстан.

Оценка условий труда проводилась согласно Р 2.2.2006-05, при участии сотрудников отдела гигиены и физиологии труда ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», и включала изучение загрязнения воздуха рабочей зоны вредными веществами, определение уровней производственного шума, вибрации, параметров микроклимата, освещенности, тяжести и напряженности трудового процесса.

Изучение состояния здоровья осуществлено в рамках углубленных периодических медицинских осмотров работников в соответствии с приказами Минздравмедпрома РФ от 14.03.1996 № 90 и Минздравсоцразвития России от 16.08.2004 № 83, при участии сотрудников клиники института. Диагностика заболеваний осуществлена в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (ВОЗ, 1995 г.). При медицинском обследовании работников использовался широкий спектр функциональных методов.

Оценка степени связи нарушений здоровья с работой установлена на основании расчета относительного риска (RR) и этиологической доли (EF, %) в соответствии с методическими рекомендациями «Методология выявления профессиональных заболеваний и заболеваний, связанных с условиями труда» (Н. Ф. Измеров, Э. И. Денисов, 2010). Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ статистического анализа «Statistica for Windows».

Гигиеническая оценка условий труда. Современное производство синтетических смол характеризуется непрерывностью, замкнутостью технологического цикла, дистанционным управлением, использованием в основном герметичных высокопроизводительных типов оборудования, применением унифицированных строительных конструкций.

Основным вредным фактором рабочей среды в изученном производстве был химический фактор, который представлен вредными веществами 2–3 класса опасности: бензол, оксид этилена, оксид пропилена, этилбензол, стирол. Основные профессии в производстве составили аппаратчики технологических установок и слесари по ремонту контрольно-измерительных приборов и автоматики (КИПиА).

Аппаратчик осуществлял контроль за работой оборудования с пультов управления из помещений операторных, обеспечивал подготовку оборудования к ремонту, выполнял ряд газоопасных работ и др. При работе аппаратчиков в помещени-

ях операторных концентрации вредных веществ находились в пределах 0,2–0,7 предельно допустимых концентраций (ПДК_{ср}). При проведении газоопасных работ, связанных с разгерметизацией оборудования (отбор технологических проб, чистка фильтров, насосов и др.), максимальные концентрации отдельных вредных веществ достигали 2,5–10,9 ПДК_{макс}. Условия труда для аппаратчиков процесса по среднесменным концентрациям соответствовали классу 3.1, а по максимальным разовым – классу 3.3. Коэффициенты суммации ароматических углеводородов и оксидов олефинов составили 3,30 и 3,74 соответственно.

В целом по уровню химического фактора условия труда соответствовали классу 3.3 с учетом наиболее высокой степени вредности. Воздействие остальных факторов рабочей среды и трудового процесса на аппаратчиков соответствовало классу 2.0 за исключением производственного шума, уровни которого превышали ПДУ в пределах класса 3.1. Общая оценка условий труда аппаратчиков в производстве синтетических смол соответствовала классу 3.3.

В обязанности слесарей КИПиА входило обслуживание приборов, расположенных в помещениях операторных непосредственно у технологического оборудования. Слесари КИПиА большую часть времени смены подвергались влиянию производственных факторов на уровнях значительно ниже допустимых величин при общей оценке условий труда в пределах класса 2.0.

Оценка состояния здоровья работников. Выявленные различия в условиях труда работников смол были положены в основу их группировки при анализе состояния здоровья. Основную группу составили 315 аппаратчиков производства синтетических смол. Группу сравнения составили 168 слесарей КИПиА. Все обследованные работники были мужского пола. Средний возраст аппаратчиков составил $37,4 \pm 1,3$ года при стаже работы $13,7 \pm 1,6$ года, слесарей КИПиА – $38,8 \pm 0,7$ и $14,6 \pm 0,7$ года соответственно.

Среди выявленных общих хронических неинфекционных заболеваний в исследуемой (основной) группе работников ведущее место занимали: болезни органов кровообращения ($51,4 \% \pm 2,8 \%$), пищеварения ($34,2 \% \pm 2,7 \%$), дыхания ($19,6 \% \pm 2,2 \%$), нервной системы ($19,7 \% \pm 2,2 \%$), уха и сосцевидного отростка ($12,7 \% \pm 1,9 \%$). Распространенность их у аппаратчиков встречалась достоверно чаще, чем у слесарей КИПиА. Заболевания костно-мышечной системы встречались с одинаковой частотой в обеих обследованных группах.

Выявлена сильная прямая корреляционная связь распространенности хронического холецистита и дискинезии желчевыводящих путей (ДЖВП) ($r = 0,94$), а также болезней системы кровообращения ($r = 0,88$) со стажем работы у аппаратчиков. Следует отметить, что у лиц основной группы относительно молодого возраста при ста-

же работы до 10 лет отмечено раннее формирование синдрома расстройства вегетативной нервной системы (РВНС) по гипертоническому типу, патологии верхних дыхательных путей (ВДП), хронического гастрита ($p < 0,05$).

Выявлены статистические признаки связи заболевания с работой у аппаратчиков в интервале от средней до высокой степени обусловленности. По синдрому расстройства нервной системы по гипертоническому типу (RR 2.0; EF 49 %), по болезням верхних дыхательных путей (RR 2.5; EF 60 %), для хронического гастрита (RR 2.8; EF 64 %), хронического холецистита и дискинезии желчевыводящих путей (RR 3,6; EF 72 %). Это позволяет отнести указанные нарушения здоровья к заболеваниям, связанным с условиями труда.

Таким образом, проведенные исследования установили, что:

1. Основным вредным фактором рабочей среды и трудового процесса на предприятии химического комплекса является загрязнение воздуха рабочей зоны химическими веществами 2–3 класса опасности.

2. С учетом максимальных разовых концентраций и коэффициентов суммации вредных веществ одностороннего действия условия труда работников соответствуют классам условий труда допустимого (класс 2) и вредного (класс 3.3).

3. В зависимости от общей оценки условий труда работники предприятия химического комплекса разделены на 2 группы: аппаратчиков, на которых воздействуют вредные условия труда (класс 3.3), и слесарей КИПиА, работающих в допустимых условиях (класс 2).

4. Основными классами хронических неинфекционных заболеваний у большинства работников основной группы производства синтетических смол были болезни системы кровообращения, органов пищеварения, костно-мышечной системы, органов дыхания и нервной системы.

5. Анализ возможной связи нарушений здоровья с работой показал, что вредное воздействие условий труда на предприятии химического комплекса играет определяющую роль в формировании общесоматической патологии у аппаратчиков производства.

УДК 615.4:658.567.5(035)

Балакаева А. В.**САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ УЧАСТКА ПО ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЮ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АППАРАТНЫХ МЕТОДОВ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ***ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС им. А.Н. Сысина»
Минздрава России,
Москва*

Быстрый рост объемов образующихся медицинских отходов в крупных мегаполисах Российской Федерации, а также введение в действие новых санитарных правил СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» привели к активному переходу на аппаратные методы обеззараживания и созданию в медицинских организациях участков по обеззараживанию отходов (УОМО), оснащенных специализированным автоматизированным оборудованием.

УОМО – новое понятие, появившееся в последней редакции СанПиН 2.1.7.2790-10, которое, кроме рабочей зоны для обеззараживания отходов, включает набор следующих вспомогательных помещений: помещение для приема и временного хранения необеззараженных отходов; мойки и дезинфекции вспомогательного инвентаря для сбора отходов; временного хранения инвентаря; склад расходных материалов; санитарно-бытовые помещения (гардеробная, душевая, санузел, хранение уборочного инвентаря); комната персонала с рабочим местом и помещение для хранения обеззараженных отходов. Размеры помещений определены действующими нормативными документами, регламентирующими деятельность по обращению с отходами.

Как любое технологическое оборудование, установки для обеззараживания медицинских отходов могут оказывать влияние на санитарно-эпидемиологическое состояние воздушной среды рабочей зоны. Последнее может сказываться на эпидемиологической безопасности медицинского и технического персонала, работающего на УОМО.

В соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность, СанПиН 2.1.3.2630-10, показатель общего количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха помещений УОМО не нормируется. Однако нам представлялось важным провести изучение влияния установок, использующих различные методы обеззараживания (метод обработки насыщенным паром под давлени-

ем, с измельчением и без измельчения; метод влажного жара и СВЧ-обработка) на этот эпидемиологически значимый показатель.

Были проведены исследования уровня загрязнения воздуха микроорганизмами по показателям колонеобразующих единиц (КОЕ/м³). Количество золотистого стафилококка в 1 м³ не определялось, т. к., согласно Санитарно-эпидемиологическим требованиям к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность, СанПиН 2.1.3.2630-10, помещение участка по обеззараживанию отходов относится к классу чистоты «Г», где этот показатель не нормируется.

Исследования проводились в медицинских организациях г. Москвы, на УОМО, оснащенных следующими установками, использующими физические методы обеззараживания: «Экос» (обеззараживание методом стерилизации с предварительным измельчением в одном цикле; цикл стерилизации происходит при температуре 138 °С, давлении 3,4 бар и стерилизационной выдержке 10 мин); «Tuttnauer» (стерилизация осуществляется перенасыщенным паром при температуре 134–138 °С, давлении 3,5 бар, стерилизационной выдержке не менее 10 мин. и вакуумированной сушке простерилизованных отходов); СВЧ-установка УОМО-01/150-«О-ЦНТ» (нагрев и обработка отходов сверхвысокочастотными электромагнитными колебаниями до температуры 100 °С с применением раствора сенсбилизатора); установка «Newster» (обеззараживание методом протеинового лизиса при температуре 155–160 °С). В исследование была также включена установка «Стеримед-1», основанная на принципе химической дезинфекции с предварительным измельчением (в качестве дезинфицирующей жидкости используется «Стерицид» – смесь четвертичных аммониевых оснований и глутарового альдегида).

Забор воздуха производился до начала обработки и в момент открытия крышки установки. Использовался питательный агар, в состав которого добавлялись компоненты «универсального» нейтрализатора.

В проведенных испытаниях для установок, использующих физические методы обеззараживания, показатель общего микробного числа (ОМЧ) воздуха рабочей зоны после обеззараживания варьировал от 200 до 1730 КОЕ/м³. Так, например, значения ОМЧ для установки «Экос» находились в диапазоне от 350 до 550 КОЕ/м³; для установки «Tuttnauer» – от 120 до 970 КОЕ/м³; «Newster» – от 460 до 1370 КОЕ/м³; УОМО-01/150-«О-ЦНТ» – от 620 до 1730 КОЕ/м³.

В отличие от установок, использующих физические методы обеззараживания, исследования, проведенные с установкой, работающей по принципу химической дезинфекции с измельчением, показали иные результаты: в ряде случаев ОМЧ воздуха после проведения цикла обеззараживания увеличилось от двух до тридцати раз (максимальные значения составили от 590 до 4500 КОЕ/м³).

Однако также имели место замеры, когда значительного роста ОМЧ в воздухе рабочей зоны не определялось и ОМЧ находилось в диапазоне от 180 до 530 КОЕ/м³.

Выводы.

1. В ходе экспериментальных исследований ОМЧ воздуха рабочей зоны УОМО, после проведения цикла обеззараживания на установках, использующих физические методы обеззараживания, данный показатель не превышал значения 1730 КОЕ/м³ после открытия и выгрузки отходов, по окончании цикла обеззараживания.

2. При работе на установке, основанной на принципе химической дезинфекции с измельчением, ОМЧ повышалось до 4500 КОЕ/м³. Данное обстоятельство делает оправданным более тщательный подход к выбору дополнительных средств индивидуальной защиты работающего персонала УОМО.

3. Различие технологий, использующих физические методы обеззараживания (метод обработки насыщенным паром под давлением, с измельчением и без измельчения; метод влажного жара и СВЧ-обработка), существенно не влияет на величину ОМЧ.

4. Для оценки профессиональных рисков медицинского и технического персонала УОМО необходимы расширенные экспериментальные исследования летучих компонентов воздуха рабочей зоны, а также микроклимата помещений УОМО.

УДК 616-073:622.323-057.5

Галлямова С. А., Габдулвалеева Э. Ф.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У НЕФТЯНИКОВ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИИ

*ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека»,
Уфа*

Воздействие неблагоприятных факторов рассматривается некоторыми авторами в качестве стрессоров, нарушающих церебральный гомеостаз. Накопленные данные показывают, что метод электроэнцефалографии (ЭЭГ) высокочувствителен и позволяет регистрировать изменения функционального состояния центральной нервной системы уже на ранних стадиях их возникновения. В частности, уменьшение биоэлектрической активности (БЭА), снижение стабильности доминирующего альфа-ритма, усиление пароксизмальных всплесков в ЭЭГ рассматриваются как показатели нарушения механизмов церебрального гомеоста-

за, барьерных функций, предохраняющих мозг от перегрузок.

Цель исследования: методом ЭЭГ оценить функциональное состояние центральной нервной системы у нефтяников, работников нефтедобывающей промышленности.

Нами проанализированы 140 ЭЭГ в состоянии относительного покоя и при функциональных нагрузках у рабочих нефтедобывающей промышленности (бурильщики, помощники бурильщиков, операторы ПРС и КРС, операторы по добыче нефти и газа (ДНГ), машинисты и слесари) в возрасте от 20 до 55 лет, со стажем работы от 5 до 20 лет и выше, находившихся на углубленном обследовании в клинике института. Контролем служили 30 здоровых лиц того же возраста. Исследование проводилось на аппаратно-программном комплексе «Нейрокартограф 6» фирмы МБН, г. Москва. ЭЭГ регистрировали в системе отведений 10–20, с лобных, центральных, теменных, затылочных и височных областей. Кроме традиционной (визуальной) оценки, проводилось определение спектра плотности мощности биоэлектрических процессов и их функций когерентности (межзональные взаимосвязи) по областям мозга, по внутри- и межполушарным парам.

Анализ фоновой биоэлектрической активности мозга (БЭА) у нефтяников показал, что в зависимости от выраженности альфа-ритма, в соответствии с общепринятыми критериями оценки здоровых людей, ЭЭГ всех испытуемых по величине альфа-индекса можно подразделить на три группы.

К первой группе отнесены 20 ЭЭГ (14,3 %), на которых регистрировался альфа-ритм средней выраженности (альфа-индекс от 30 % до 70 %, составил 58 %).

Ко второй группе отнесены 35 ЭЭГ (25 %) с ослабленной, редуцированной альфа-активностью (альфа-индекс не более 30 %, составил 28,2 %).

К третьей группе отнесены 85 ЭЭГ (60,7 %) с высоким уровнем альфа-ритма (альфа-индекс выше 70 %, составил 80,5 %).

По данным спектрального анализа БЭА, также выделены 3 группы ЭЭГ: нормальный, активированный и пароксизмальный, которые соответствовали I, III, IV типам известной классификации (Жирмунская Е. А. и др., 1994) и составляли 12,8 % в I-й группе, 25,8 % – во II-й группе и 61,4 % – в III-й группе испытуемых.

Нормальный тип ЭЭГ был представлен мономодальным альфа-ритмом в диапазоне от 9,0–11,5 Гц, с доминирующим пиком 10,5 Гц, соответствующим 16 % в правом полушарии и 14 % – в левом. Мономодальность указывает, что в генерации альфа-волн участвует локальный генератор в затылочных долях. Выявлен высокий уровень когерентности (КОГ) по альфу-ритму в теменно-затылочных областях по внутриполушарным парам, сильные прямые и обратные связи – по межполушарным парам.

В 25,8 % случаев отмечалась низковольтная

дизритмия – активированный тип ЭЭГ – II-я группа. На спектрограммах доминирующий пик альфа-диапазона не выделялся. Характерными компонентами ЭЭГ лиц этой группы являлись низкоамплитудные медленные волны, нерегулярный бета-ритм, а также быстрые асинхронные колебания, острые волны, пики. Часто регистрировались билатерально-синхронные вспышки, иногда – сложной структуры, с амплитудой до 60–100 мкВ, тогда как преобладающая амплитуда корковой ритмики была очень низкой, явно свидетельствуя об усилении активирующих влияний на метаболизм корковых нейронов со стороны ретикулярной формации ствола (так называемое «неспецифическое активирование» коры). Из частых жалоб нефтяников этой группы являлся плохой сон, невозможность расслабиться. По данным КОГ этой группы, отмечалось снижение когерентности по внутрислоушарным парам, а по межполушарным парам – сильные межзональные связи сохранились.

В 61,4 % случаев наблюдалась дезорганизация основного ритма по пароксизмальному типу. По данным спектрального анализа выделен полимодальный альфа-ритм 8,0–11,5 Гц с доминирующими пиками на 9,0 и 12,0 Гц, составляющий – 21 % в правом полушарии и 18 % в левом. Представленные данные указывают на то, что в генерации альфа-ритма участвуют несколько генераторов мозга. В III-й группе в половине случаев наблюдались генерализованные билатерально-синхронные высокоамплитудные вспышки тета- и дельта-ритмов заостренной формы и сложных сочетаний (острая-медленная волна), напоминающих эпилептиформные комплексы. Амплитуда этих вспышек чаще преобладала в лобных и центральных областях. Наличие билатерально-синхронных пароксизмальных вспышек аномальной активности у взрослого человека расценивается как проявление патологического состояния гипоталамо-мезодиэнцефальных структур. КОГ-анализ выявил избыточный уровень интеграции в теменно-височных областях при снижении теменно-затылочных и лобно-височных отношений по внутрислоушарным парам и сохранении сильных прямых и обратных связей по межполушарным парам.

При функциональных нагрузках высокая реактивность (полная блокада – десинхронизация исходного уровня активности) на пробу со светом в I-й группе отмечалась практически во всех случаях. При фотостимуляции переменной частотой раздражения у 15 человек вызванная активность регистрировалась в пределах световых стимулов от субальфа до альфа-частот, в 5 случаях отмечалось расширение диапазона усвоения навязанного ритма в сторону более высоких частот (12–15 Гц). У лиц первой группы при нормальных значениях фоновых ЭЭГ отмечалось небольшое усиление диффузных изменений БЭА при функциональных нагрузках.

У испытуемых второй группы, особенно с «плоскими» ЭЭГ, обнаружить отчётливых реакций на пробу со светом не удалось. При фотостимуляции явление слабого усвоения ритма наблюдалось лишь у 20 человек из 35; при этом выявлялось смещение оптимума усвоения световых раздражений, преимущественно в сторону более высоких частот. Одни авторы указывают, что «плоские» ЭЭГ отражают состояние напряжённого бодрствования у здорового человека с конкретным, зрительно-образным способом мышления, другие авторы указывают, что «плоские» ЭЭГ часто встречаются и при патологии среди больных, имеющих длительный контакт с токсическими веществами.

У лиц третьей группы выявлялась достаточно высокая реактивность на функциональные пробы со светом. Реакция усвоения ритма при ритмической фотостимуляции у 10 испытуемых была снижена, у остальных обследованных она выявлялась в затылочных областях при частоте световых мельканий 10–12 Гц. У нефтяников этой группы картина электрической активности показывает снижение функционального состояния коры головного мозга и усиление билатерально-синхронных симметричных вспышек тета-волн и пароксизмальных вспышек сложного состава. Характерной особенностью для большинства лиц этой группы было нарушение зонального распределения активности, фрагментарный тип ЭЭГ с увеличением медленных и быстрых пароксизмов в переднецентральных областях мозга, что указывает на изменение функциональных связей в неспецифических образованиях гипоталамо-мезодиэнцефального уровня. Клинически эти нарушения проявлялись в виде вегето-сосудистых расстройств.

Ритмическая фотостимуляция использовалась нами не только как провокационный тест для выявления патологических знаков, но и как способ восстановления межзональных связей. Так, у лиц первой группы с помощью навязанного альфа-ритма, с частотой 10–12 Гц, после трех фрагментарных сеансов фотостимуляции удалось увеличить число и силу связей между разными зонами коры как внутри полушария, так и между полушариями. У нефтяников второй группы также отмечалось усиление межполушарных связей между одноименными областями коры и в то же время выявлялось увеличение альфа-ритма в затылочных областях и усиление внутрислоушарных связей. У нефтяников третьей группы установлено небольшое снижение альфа-ритма в центрально-теменных отделах, восстановление его в затылочных областях и усиление межзональных связей как внутри, так и между полушариями.

Таким способом, в 81,4 % случаев нам удалось нормализовать показатели ЭЭГ с правильным их пространственным распределением, а посредством включения имеющихся функциональных резервов и механизмов саморегуляции мозга – стабилизировать функциональное состояние центральной нервной системы. В то же время в 18,6 % случаев

этот способ оказался недостаточно эффективным для нормализации показателей ЭЭГ.

При сопоставлении данных спектрального анализа нефтяников с показателями контрольной группы обращает на себя внимание отсутствие пиков 9 и 12 Гц в альфа-диапазоне у практически здоровых лиц. Мода частоты доминирующего альфа-ритма в контроле соответствует 10 Гц, а у нефтяников чаще – 9 и 12 Гц. Таким образом, выявляется отклонение моды альфа-ритма от оптимального уровня (10 Гц) в сторону низких и высоких частот альфа-диапазона.

Выявленные типы ЭЭГ регистрировались с различной частотой у нефтяников практически всех изученных профессий, однако распространенность пароксизмального типа последовательно убывала в ряду «бурильщик – помощник бурильщика – оператор КРС – оператор ДНГ – машинист» (коэффициент корреляции $\rho = -0,9$), что позволяет говорить о большой частоте системного рассогласования на центральном (церебральном) уровне в зависимости от тяжести условий труда.

Стаж и возраст нефтяников имели однонаправленные изменения, но анализ данных по группам ЭЭГ выявил, что стаж работы является ведущим. Наибольший стаж работы имели лица с редуцированным и пароксизмальными типами ЭЭГ.

Следовательно, общемозговыми симптомами у нефтяников можно считать значительное уменьшение БЭА мозга с частотой 10 Гц, замещением его медленными и быстрыми ритмами альфа-диапазона, усилением всплеск полиморфной активности.

Функциональные нарушения центральной нервной системы обусловлены дезорганизацией корково-подкорковых взаимоотношений, что клинически проявляется в виде вегетативно-сосудистых расстройств, иногда (18,6 %) – с астеническим синдромом.

УДК 614.7:546.3(-21)

**Даукаев Р. А., Бадамшин К. М.,
Голубцова И. В.**

**ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ
МЕТАЛЛАМИ
СНЕЖНОГО И ПОЧВЕННОГО
ПОКРОВОВ КРУПНОГО
ПРОМЫШЛЕННОГО ГОРОДА**

*ФБУН «Уфимский НИИ медицины
труда и экологии человека»,
Уфа*

Уфа является промышленным центром, важным узлом автомобильных и железных дорог. Большая часть жилого массива находится в зоне влияния

промышленных предприятий, расположенных в его северной и южной частях. Поэтому техногенная нагрузка на городские ландшафты высока.

Общеизвестно, что значительная техногенная нагрузка на окружающую среду (ОС) приводит к ее загрязнению различными токсикантами, среди которых весомый вклад в загрязнение вносят тяжелые металлы (ТМ). Попадая через органы пищеварения и дыхания в организм человека, ТМ аккумулируются в различных тканях с последующим токсическим воздействием на организм.

Основная масса ТМ, участвующих в атмосферной миграции, при осаднении с дождем или снегом аккумулируется в почве. По нашему мнению, для адекватной гигиенической оценки степени загрязненности городской среды ТМ актуальны комплексные исследования, сочетающие изучение депонирующих сред, отражающих различные временные характеристики загрязнения атмосферного воздуха.

Объектами исследования являлись отобранные в 2011–2012 гг. пробы снежного покрова и почвы. Площадки отбора проб выбраны вблизи основных источников выбросов – крупных промышленных предприятий, интенсивных участков движения автотранспорта, в рекреационных зонах. В перечень контролируемых показателей были включены металлы, являющиеся приоритетными по объемам выбросов основных источников загрязнения г. Уфы.

Отбор проб снежного покрова проводился в соответствии с методическими рекомендациями с помощью снегомера, изготовленного из полиэтиленовой трубы, который вертикально погружался в снеговую толщу до почвы. Нижняя часть снежного керна, загрязненная частицами почвы, отбрасывалась. Для одной пробы отбирали от 4 до 8 кернов. Снег фильтровали и концентрировали упариванием, полученный раствор анализировали на содержание ТМ (Hg, Pb, Cd, Ni, Mn, Cr, Zn, Cu, Fe).

Отбор проб почв проводился методом «конверта» в местах отбора снежного покрова. Из точек участка отбирали пластмассовой лопаткой пять образцов почвы с глубины 0–10 см. Обработку проб почв проводили различными методами для определения подвижных (Pb, Cd, Ni, Mn, Cr, Zn, Cu, Fe) и кислоторастворимых (Hg, Pb, Cd, Ni, Mn, Cr, Zn, Cu, Fe) форм ТМ.

В качестве фонового участка была выбрана территория в южной части города (санаторий «Радуга»), характеризующаяся наименьшим уровнем загрязнения атмосферного воздуха.

Анализы выполнялись в химико-аналитической лаборатории ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». Определение содержания тяжелых металлов проводилось на атомно-абсорбционном спектрофотометре фирмы «Varian». Обработка полученных данных произведена с использованием программы «Microsoft Excel».

Согласно эколого-гигиеническим представлениям, при оценке уровня загрязнения снежного покрова учитывалось, насколько фактическое содержание вредных веществ превышает существующие регламенты. В связи с отсутствием ПДК химических веществ для снежного покрова оценку производили по утвержденным нормативам качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения и хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Данный подход оправдан тем, что талые воды, поступающие в период весеннего половодья, с городских территорий в реку Белая, Уфа, Шугуровка, Дема, составляют определенный процент их общего питания, что значительно способствует их загрязнению.

Рассчитывали коэффициенты загрязненности снежного покрова, представляющие собой отношение концентраций ТМ к их ПДК для воды водных объектов рыбохозяйственного и хозяйственно-питьевого назначения. Результаты значений средних и суммарных коэффициентов загрязненности снежного покрова свидетельствовали, что наибольший вклад с учетом ПДК для воды водных объектов рыбохозяйственного значения ($ПДК_{р.х.}$) вносят медь, цинк, марганец, никель, а с учетом ПДК для воды водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования ($ПДК_{хоз.шт.}$) – кадмий, марганец, никель. Загрязненность снежного покрова г. Уфы за зимние периоды 2011 и 2012 гг. была выше предельно допустимой, с учетом $ПДК_{р.х.}$ в 5 раз.

Кроме того, экологическую оценку степени загрязнения территории проводили с использованием показателей, разработанных при сопряженных геохимических и геологических исследованиях ОС городов. Такими показателями являются: коэффициент концентрации химического вещества, характеризующий кратность превышения содержания химических элементов в точке опробования над его средним содержанием на фоновом участке, и суммарный показатель загрязнения (СПЗ), который равен сумме коэффициентов концентраций химических элементов.

Оценка опасности загрязнения депонирующих сред комплексом металлов по показателю СПЗ, отражающему дифференциацию загрязнения воздушного бассейна городов ТМ, проводилась по оценочной шкале.

Обследованная территория г. Уфы была условно разделена на 3 части: 1 – южная часть, 2 – центральная часть, 3 – северная часть. В южной части располагаются: санзона аэропорта, асфальтобетонный завод, проходит автотрасса с интенсивным движением грузового и легкового автотранспорта. Центральная часть включает автодороги с интенсивным движением, гальванические и металлообрабатывающие цеха заводов. Северная часть является старым промышленным центром, где располагаются крупные предприятия нефтепереработки.

Результаты исследований показали, что снеж-

ный покров южной части города наиболее загрязнен марганцем, ртутью, кадмием. Основной вклад в суммарную загрязненность снежного покрова вносят марганец (22 %), ртуть (17 %), кадмий (16 %). В снежном покрове центральной части города преобладали следующие элементы: медь – 23 %, марганец – 16 %, кадмий – 14 %. Доля вклада элементов в загрязненность снежного покрова в северной части города составила по никелю 39 %, по марганцу 12 %, по кадмию 10 %. Значение средних СПЗ южной, центральной и северной частей города составили 4,7; 11,7 и 12,5 соответственно.

По результатам 2011 г. наиболее высокая концентрация ТМ выявлена в снеговом покрове центральной части, а именно в сквере 50 лет Победы возле Уфимского завода эластомерных материалов и конструкций (ОАО «УЗЭМИК»), завода с участками гальванопокрытий и сварки (ОАО УАП «Гидравлика»), расположенной вблизи районной котельной. Основной вклад в загрязнение снежного покрова исследуемыми металлами вносят медь – 56,7 %, марганец – 13,7 %, цинк – 11,1 %, свинец – 9,1 %. Рассчитанный уровень загрязнения по величине СПЗ, равный 24,7, характеризуется как «умеренно опасный». Повышенное содержание этих металлов в данном районе можно связать с непосредственной близостью автодорог с интенсивным движением, а также работой гальванических и металлообрабатывающих цехов заводов.

В 2012 г. наиболее высокое значение СПЗ (26,3) выявлено в северной части города, в районе проходной Уфимского нефтеперерабатывающего завода (ОАО «УНПЗ»), которое характеризуется также как «умеренно опасный» уровень загрязнения. Основную долю в загрязнение снежного покрова вносили: никель – 46,9 %, марганец – 13,7 %, ртуть – 11,7 %, кадмий – 7,3 %. Аналогичная ситуация, с преобладанием по удельному вкладу никеля – 33,1 % и марганца – 29,1 %, наблюдалась вблизи расположения ОАО «УНПЗ» и в 2011 г. Повышенный уровень загрязнения снега металлами в данном районе можно объяснить технологическими процессами нефтепереработки, сжиганием больших объемов топлива и применением катализаторов, в состав которых входят: никель, марганец, хром, цинк, медь, железо.

Полученные результаты за 2011–2012 гг. свидетельствуют о тенденции снижения средних суммарных показателей загрязнения снежного покрова ТМ в южной и центральной частях города и об увеличении их в северной части города. В 2011 г. загрязненность города Уфы обуславливалась в основном такими элементами, как медь и марганец, а в 2012 г. – возросло поступление никеля и ртути.

Данные по содержанию ТМ в почвенном покрове г. Уфы свидетельствуют о проявлении мозаичного загрязнения токсикантами условных частей города. Наиболее высокие концентрации валовых и подвижных форм металлов установлены по свинцу и никелю (до 0,9 ПДК) на садовых

участках вблизи ОАО «УНПЗ» (северная часть города), по марганцу (до 1,2 ПДК) – в парке имени М. Гафури.

Значения коэффициентов концентрирования валовых форм ТМ в почвах относительно фоновой территории изменялись в следующих интервалах: Hg (0,8–5,6), Pb (0,7–3,6), Cd (0,6–1,6), Ni (0,8–1,2), Mn (0,5–1,3), Cr (0,6–1,0), Zn (0,6–1,6), Cu (0,6–1,1), Fe (0,6–1,0). Анализ валового содержания металлов в почвах условных частей города показал, что наибольшее превышение относительно фона отмечается по ртути, свинцу, кадмию, цинку.

Коэффициенты концентрации подвижных форм ТМ в обследованных почвах имели достаточно высокие значения и составили: Pb (0,4–8,6), Cd (0,4–1,6), Ni (0,4–1,4), Mn (0,5–1,5), Cr (0,5–2,3), Zn (0,2–7,0), Cu (0,1–3,1), Fe (0,2–34,0). По подвижным формам металлов максимальное превышение над фоном наблюдалось по железу, свинцу, цинку, меди.

Ранговое распределение условных частей города по суммарным показателям загрязнения валовыми и подвижными формами тяжелых металлов отличаются. Если по значениям суммарного загрязнения, рассчитанным по валовому содержанию металлов, лидирует северная часть города, затем следуют почвы центральной и южной частей, то по подвижным формам первое место занимает южная часть города, далее располагаются северная и центральная части.

Почвы г. Уфы по СПЗ подвижными формами тяжелых металлов, согласно ориентировочной шкале опасности, относятся к категориям от допустимого значения (центральная и северная части) – до умеренно опасного (южная часть), а по валовым концентрациям – к допустимым (южная, центральная, северная части).

В последние годы в связи с уменьшением объемов выпуска продукции, а в ряде случаев – и с закрытием некоторых производств снижается промышленная нагрузка на различные участки города. Однако действующие источники техногенного загрязнения многочисленны, состав выбросов сложен и разнообразен, поэтому мониторинг ТМ на объектах ОС и внутри них является актуальным, а ранжирование территории города по степени экологического неблагополучия необходимым.

Таким образом, изучена степень загрязнения тяжелыми металлами снежного и почвенного покровов территории г. Уфы с целью комплексной оценки суммарной техногенной нагрузки. Выявлены приоритетные тяжелые металлы и произведено ранжирование территории по степени экологической неблагоприятности.

УДК 613.6.027

Дубель Е. В.¹, Унгуриян Т. Н.², Ильин А. В.²

РИСК РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНЕЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ, СВЯЗАННЫЙ С ТАБАКОКУРЕНИЕМ

¹Северный государственный медицинский университет, Архангельск

²Управление Роспотребнадзора по Архангельской области, Архангельск

Состояние здоровья медицинских работников является актуальным научным и социально-экономическим вопросом в настоящее время. Медицинский персонал подвергается негативному влиянию многочисленных факторов производственной среды и трудового процесса (Бектасова М. В., 2008; Панков В. А., 2010; Онищенко Г. Г., 2007). Воздействие неблагоприятных условий труда на здоровье данного контингента значительно усугубляется рядом экологических, социальных, поведенческих и других факторов, что приводит к формированию высокого уровня острой и хронической заболеваемости (Бабанов С. А., 2010; Бойко И. Б., 2008; Онищенко Г. Г., 2007; Летникова Л. И., 2013; Штернис Т. А., 2013).

Табакокурение является фактором, наносящим значительный ущерб здоровью, способствуя развитию ряда серьезных заболеваний сердечно-сосудистой системы, легких, системы пищеварения, онкологической и другой патологии, что впоследствии может приводить к преждевременной потере трудоспособности и смерти человека (Бабанов С. А., 2010; Максимова Т. М., 2010).

Цель исследования: изучить распространенность табакокурения среди медицинских работников БУЗ ВО «Вологодская городская больница №1» и оценить связанный с потреблением табака риск возникновения ишемической болезни сердца (ИБС).

Методы. Выполнено эпидемиологическое поперечное исследование для изучения распространенности курения среди персонала БУЗ ВО «Вологодская городская больница №1», которая является одной из крупнейших лечебно-профилактических организаций Вологодской области. В ее состав входят 13 клинических и 10 параклинических отделений. Для получения информации о потреблении табака медицинскими работниками применялся опросный метод с помощью анкеты CINDI. Число лиц, участвовавших в опросе, составило 332 человека. В качестве мер для описания данных использовались медиана, доли и 95% доверительные интервалы. Статистический анализ данных проводили с помощью программы STATA 12.1.

Оценку риска возникновения ИБС, связанной с потреблением табака, проводили на основе методических рекомендаций «Оценка риска, связанного с воздействием факторов образа жизни на здоровье населения» (МР 2.1.10.0033-11). Для расчета суточного поступления никотина в организм использовали значение содержания никотина в сигаретах, равное 0,5 мг.

Индивидуальный риск развития ИБС рассчитывали с учетом возраста начала курения и количества выкуриваемых сигарет в день. Уровень индивидуального риска в диапазоне от 1×10^{-4} до 1×10^{-3} и выше 1×10^{-3} расценивался как неприемлемый, в диапазоне от 1×10^{-6} до 1×10^{-4} – как допустимый.

Результаты. Средний возраст опрошиваемых медицинских работников составил 42,5 года (95 % ДИ: 41,3–43,6). Доля лиц мужского и женского пола, участвовавших в опросе, составила 8,4% и 91,6 % соответственно. Установлено, что 0,9 % (3) опрошенных получили начальное образование, 9,9 % (33) – полное среднее образование, 68,4 % (227) – среднее профессиональное образование и 20,8 % (69) – высшее образование. Среди опрошенных 23,5 % (79) респондентов относились к категории младшего медицинского персонала, 62,3 % (207) являлись средним медицинским персоналом, а 14,2 % (47) – врачами.

Результаты опроса показали, что 20,2 % (95 % ДИ: 15,8–24,6) респондентов курят ежедневно, 11,8 % (95 % ДИ: 8,2–15,3) курят время от времени, 58,8 % (95 % ДИ: 53,5–64,2) никогда не курили. Среди медицинских работников, потребляющих табак, доля лиц мужского и женского пола составила 11,6 % (95 % ДИ: 5,3–17,9) и 88,4 % (95 % ДИ: 82,0–94,6) соответственно. Почти половина, 49,5 % (95 % ДИ: 39,7–59,3), курящих респондентов, представлена средними медицинскими работниками; 38,8 % (95 % ДИ: 29,3–48,4) – младшим медицинским персоналом, 11,6 % (95 % ДИ: 5,3–17,9) – врачами.

Анализ полученных данных показал, что средний возраст начала потребления табака респондентами составил 21,3 года (95 % ДИ: 20,0–22,6), а средний стаж курения – 16,9 года (95 % ДИ: 14,7–19,0). Тем не менее значительна доля тех, кто хотел бы отказаться от курения – 58,4 % (95 % ДИ: 48,6–68,2). Среднее количество выкуриваемых сигарет в день составило в возрастной группе 20–29 лет – 13,3 (95 % ДИ: 8,0–18,6), в группе 30–39 лет – 11,6 (95 % ДИ: 8,2–15,1), в группе 40–49 лет – 16,2 (95 % ДИ: 13,8–18,6), в группе 50–60 лет – 16,7 (95 % ДИ: 9,2–24,2).

Медианные значения риска развития ишемической болезни сердца без воздействия факторов риска составили для возрастной группы 20–29 лет $6,7 \times 10^{-6}$, для возрастной группы 30–39 лет – $2,6 \times 10^{-5}$, для возрастной группы 40–49 лет – $1,0 \times 10^{-4}$, для возрастной группы 50–60 лет – $9,9 \times 10^{-4}$. В то же время при учете такого серьезного фактора риска, как потребление табака, риск развития ИБС составил в данных возрастных группах $8,5 \times 10^{-6}$, $3,2 \times 10^{-5}$,

$1,9 \times 10^{-4}$ и $1,5 \times 10^{-3}$ соответственно. Таким образом, при воздействии табакокурения риск развития ИБС для опрошенного медицинского персонала является допустимым среди респондентов 20–39 лет, настораживающим среди респондентов 40–49 лет, высоким среди лиц 50–60 лет.

Заключение. Курение является распространенным поведенческим фактором риска среди медицинских работников БУЗ ВО «Вологодская городская больница №1». Лишь половина опрошенного медицинского персонала стационара никогда не потребляла табак. Более половины курящих лиц, участвовавших в опросе, хотели бы отказаться от данной привычки, что говорит о недостаточно полном понимании медицинскими работниками проблемы потребления табака, а также возможных последствий и рисков, связанных с курением.

Риск развития ишемической болезни сердца, обусловленный табакокурением среди респондентов 20–39 лет, является допустимым, среди респондентов 40–49 лет – настораживающим, среди опрошенных лиц старше 50 лет – высоким, что требует проведения организационных мероприятий, направленных на оказание помощи в отказе от курения, прежде всего – старшим возрастным группам медицинского персонала.

УДК 575.113:616.248

**Каримов Д. О., Шагалина А. У.,
Байзигитов Д. Р., Мухаммадиева Г. Ф.,
Багаудинова Э. Г.**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

*ФБУН «Уфимский НИИ медицины
труда и экологии человека»,
Уфа*

Введение. Бронхиальная астма (БА) – это заболевание, в основе которого лежит хроническое воспаление дыхательных путей, характеризующееся обструкцией, а также гиперреактивностью бронхов, развивающимся вследствие контакта со специфическими агентами. Среди профессиональных легочных заболеваний БА является самой распространенной. В 9–15 % случаев БА вызвана производственными агентами. Распространена БА среди рабочих предприятий фармацевтической, деревообрабатывающей и нефтехимической промышленности, а также у людей, работающих в пекарнях, зернохранилищах, занимающихся разведением животных и птиц. Необходимость систематически собирать информацию о рабочем месте и факторах среды обуславливается частой неправильной диагностикой БА в связи с постепенным

развитием болезни, принимаемым ошибочно за хроническую обструктивную болезнь легких или хронический бронхит.

В развитии БА участвуют множество механизмов. Одним из факторов может являться полиморфизм генов, продукты которых задействованы в патогенезе атопии. В этом случае молекулярно-генетические маркеры могут помочь в дифференциальной диагностике БА, предсказании развития и течения этого заболевания.

При проникновении в организм сенсибилизирующих агентов происходит активация тучных клеток и базофилов и выброс ими вазоактивных аминов (прежде всего гистамина), а также провоспалительных цитокинов и хемокинов. Это, в свою очередь, направляет дифференцировку Т-хелперов в направлении Т-хелперов 2-го типа, играющих важную роль в формировании астмы. Лимфоциты Th2-типа продуцируют IL4, IL5, IL13, IL9, но теряют способность продуцировать интерферон – γ . Индукция дифференциации Т-хелперов свойственно только IL4, в то время как индукция молекул адгезии васкулярных клеток происходит и при участии IL13.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что у больных БА повышена секреция цитокинов: IL4, IL5, IL13, – которая, в свою очередь, коррелирует с выраженностью клинических признаков болезни.

Интерлейкин 5 (IL5) – цитокин – преимущественно секретируется Т-клетками, но также тучными клетками и эозинофилами, отвечает за созревание эозинофилов в костном мозге и высвобождение их в кровь. В то время как у мышей IL5 воздействует также на В-лимфоциты, у людей он воздействует только на эозинофилы и базофилы, у которых отвечает за созревание, рост, активацию и продолжительность существования. Специфичность такого действия объясняется тем, что только эти клетки имеют к нему рецептор.

В гене *IL5* описано несколько полиморфных локусов. Нами изучен локус rs2069812 с заменой цитозина на тимин в положении -746. Имеются данные, свидетельствующие, что аллель Т коррелирует с пониженным уровнем IL5 в крови и имеет протективный характер в развитии такого аутоиммунного заболевания, как болезнь Грейвса. Так как эозинофилы являются доминирующими в аллергических реакциях, высокоспецифичность гена *IL5* делает его хорошим кандидатом для поиска молекулярно-генетических маркеров.

Ген, кодирующий интерлейкин 13, находится в 25 kb от гена *IL4*, что наводит на мысль, что эти гены возникли как дупликация в ходе эволюции. К тому же они имеют как структурные, так и функциональные сходства. Продукты этого гена участвуют в регуляции В-лимфоцитов, активируют синтез IgE, индуцируют экспрессию главного комплекса гистосовместимости II, CD23, активацию тучных клеток и

эозинофилов и ингибируют экспрессию провоспалительных генов.

В этом гене нами изучен однонуклеотидный полиморфизм, заключающийся в замене цитозина на тимин – в 1055 положении (rs1800925), находящийся в промоторном участке гена. Аллель Т ассоциирована с бронхиальной астмой, высоким уровнем IgE, бронхиальной гиперчувствительностью, атопическим дерматитом, увеличенным риском сенсибилизации продуктами питания и внешними аллергенами, эозинофилией, астмой и повышенным риском развития дыхательной недостаточности.

Целью работы являлось изучение у больных БА республики Башкортостан ассоциации частот полиморфных локусов rs1800925, rs2069812 с развитием этой болезни.

Материалы и методы. Обследовано 108 пациентов, находящихся на стационарном лечении в отделении профессиональной аллергологии и иммунореабилитации ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» с диагнозом БА. Средний возраст составил 50,28 года, половое соотношение мужчин и женщин 44,44 % (48), 55,56 % (60) соответственно. Все обследованные больные проживали в Республике Башкортостан. Пациентам при поступлении в отделение проводились обязательные исследования общеклиническими и дополнительными методами.

Контрольная группа сформирована из 354 неродственных индивидов, не имеющих признаков БА на момент сбора материала, жителей Республики Башкортостан, подобранных по этнической принадлежности и половому составу, средний возраст которых составлял 52,42 года.

Выделение ДНК проводили методом фенольно-хлороформной экстракции из лимфоцитов венозной периферической крови. Изучение полиморфных локусов rs2069812, rs1800925 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией в реальном времени. Подбор олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных проб осуществляли с помощью программы PrimerQuest от Integrated DNA Technologies. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программ SPSS Statistics v.19. При определении достоверности различий частот генотипов и аллелей между группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йейтса, статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. При сравнении общей выборки больных БА и группы контроля выявлены достоверные различия по частотам генотипов полиморфного локуса rs2069812 гена *IL5*. В группе больных БА достоверно чаще встречался генотип СС по сравнению с группой контроля (31 % и 12 % соответственно, $\chi^2=19,59$; $p=0,001$). Напротив, генотип ТТ достоверно чаще встречался в группе здоровых индивидов (44 %), тогда как его частота в группе больных БА составила 28 % ($\chi^2=8,43$; $p=0,005$). Частота аллеля С полиморфного локуса

rs2069812 гена *IL5* в группе больных БА достоверно больше, чем в группе контроля (52 % и 34 % соответственно, $\chi^2=20,80$; $p=0,001$). Существенные различия также наблюдались по частотам аллеля Т, в контрольной группе – 66 % и 48 % – в группе больных БА ($\chi^2=20,80$; $p=0,001$). По частотам генотипа СТ достоверных различий не обнаружено.

Таким образом, в результате исследования было показано, что маркерами риска развития БА являются генотип СС (OR=3,23; 95 % CI 1,92-5,42) и аллель С (OR=2,07; 95 % CI 1,52-2,8) полиморфного локуса rs2069812 гена *IL5*.

По таким показателям, как степень тяжести заболевания и наличие осложнений, достоверных различий обнаружено не было, но наблюдается тенденция к снижению осложнений по аллелю Т.

При статистическом анализе частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1800925 гена *IL13* было показано, что различия статистически не значимы: $\chi^2=0,02$; $p=0,889$ и $\chi^2=0,77$ $p=0,381$ для генотипов СС и ТТ соответственно. Также не было обнаружено статистически значимых различий и при сравнении групп по наличию осложнений и степени тяжести болезни.

Распределение частот изученных полиморфных локусов rs2069812, rs1800925 в группах больных и здоровых индивидов соответствовало ожидаемому по равновесию Харди-Вайнберга.

Обсуждение. Бронхиальная астма по своей природе является многофакторным заболеванием, которое проявляется при сочетании эндогенных факторов с факторами риска окружающей среды. В формировании иммунного ответа на сенсibilизаторы одну из главных ролей отводят цитокинам. В данной работе изучались полиморфные локусы 2 генов интерлейкинов: *IL5*, *IL13* – rs2069812 и rs1800925 соответственно.

В нашем исследовании мы обнаружили достоверные различия в распределении частот генотипов и аллелей между группой больных БА и здоровыми по полиморфному локусу *IL5* rs1800925, что соотносится с работами других авторов, указывающими на корреляцию генотипа ТТ как протективного фактора атопии и аллергической астмы. Так как данный полиморфный локус находится в промоторном участке гена, предполагается, что он влияет на его экспрессию. В корейской популяции rs1800925 был ассоциирован с пониженной дыхательной функцией, в японских исследованиях – с пониженным уровнем эозинофилов в крови.

Полиморфный вариант rs1800925 гена *IL13* также находится в промоторном участке гена, ассоциирован с бронхиальной астмой среди детей, повышенной концентрацией IgE в крови, риском развития дыхательной недостаточности, бронхиальной гиперреактивностью, атопическим дерматитом. В нашем исследовании не обнаружено корреляции данного локуса с БА, с осложнениями и степенью тяжести заболевания, что мы связываем с недостаточным объемом выборки больных с БА.

Найденные молекулярно-генетические марке-

ры позволяют более детально проводить периодические медицинские осмотры с целью выявления восприимчивых к аллергопатологии индивидов, что в дальнейшем позволит оградить их от воздействия вредных веществ – для предотвращения развития тяжелых профессиональных заболеваний.

Решение каждого человека о необходимости проведения исследования должно приниматься добровольно, на основании его полной информированности о проводимых манипуляциях и конфиденциальности. Важно отметить, что, согласно руководству международной организации труда, работодатель не должен знать о результатах обследования без согласия работника. И особо мы хотим подчеркнуть, что эти результаты не должны являться причиной дискриминации в занятости населения.

УДК 613.6.02

Кругликова Н. В., Миронова М. В.

К ВОПРОСУ УКРЕПЛЕНИЯ СИСТЕМЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ЗДОРОВЬЯ

*ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены»
Роспотребнадзора,
Новосибирск*

Сохранение и укрепление трудовых ресурсов является основным условием роста и развития государства. Решение задач по укреплению здоровья населения, снижению уровня социально значимых и профессиональных заболеваний включает в себя создание условий и мотиваций для ведения здорового образа жизни; эффективной системы профилактики заболеваний; предупреждение факторов их развития; внедрение комплексных оздоровительных программ; разработку мероприятий, направленных на сохранение здоровья и продление трудоспособного периода жизни; создание благоприятных условий труда и постоянный мониторинг за ними; организацию доступной, современной и квалифицированной медицинской помощи работникам различных отраслей промышленности. В современных условиях укрепление системы профессионального здоровья должно стать приоритетным направлением стратегии обеспечения здоровья работающих и реализоваться посредством доступной и качественной профилактической медицинской помощи.

В Новосибирской области отмечен рост экономических затрат на компенсационные выплаты, связанные с ухудшением здоровья работника. Согласно отчетам регионального отделения фонда социального страхования в области расходы на медицинскую, социальную и профессиональную реабилитацию возросли с 62,8 млн. рублей в 2008 г.

до 123,6 млн. рублей в 2013 г. По данным клиники профзаболеваний ФБУН «Новосибирский НИИ гигиены» Роспотребнадзора, в эти же годы отмечена тенденция к снижению уровня первичной профессиональной заболеваемости в Новосибирской области. В 2008 г. в клинике установлено 102 первичных профессиональных заболевания, в 2013 г. установлено 67 первичных профессиональных заболеваний. В структуре первичных профессиональных заболеваний по-прежнему ведущей профессиональной патологией является нейросенсорная тугоухость.

На наш взгляд, повышение экономических затрат на фоне снижения первичной профессиональной заболеваемости связано с утяжелением состояния пациентов с установленными профессиональными заболеваниями за предыдущие годы, в связи с возрастными изменениями здоровья, а также за счет увеличения выплат пациентам со впервые установленными профессиональными заболеваниями из-за их поздней диагностики, когда уже имеется стойкая утрата трудоспособности. Примерно у 10 % пациентов при первичной диагностике устанавливается два и более диагнозов профессиональных заболеваний.

Поздняя диагностика профессиональных заболеваний связана с низким качеством периодических медицинских осмотров, целью которых является не только установление соответствия здоровья работника выполняемым им работам, но и выявление ранних признаков социально-значимых и профессиональных заболеваний. Существующая в настоящее время тендерная политика выбора медицинской организации для проведения периодического медицинского осмотра, направленная на снижение стоимости осмотра, а не на повышение качества медицинского обслуживания, не позволяет профильным медицинским учреждениям, таким как клиники профессиональных заболеваний, центры профпатологии, конкурировать с частными медицинскими организациями, которые чаще всего работают под лозунгом «медосмотр за час».

Таким образом, не выполняется норма закона о проведении экспертных медицинских осмотров в региональных центрах профпатологии 1 раз в 5 лет.

Результаты анализа представленных заключительных актов по периодическим медицинским осмотрам, проведенным на территории Новосибирской области медицинскими учреждениями в 2012–2013 г.г., показали, что процент охвата периодическими медицинскими осмотрами работников предприятий Новосибирской области, занятых на работах с вредными и опасными производственными факторами, составил 99,0 % в 2012 г. и 97,7 % в 2013 г. В 2012 г. ни одним медицинским учреждением не были выделены группы риска по развитию профессиональных заболеваний. В 2013 г. около 1,0 % от всех осмотренных отнесено в группу риска развития профессиональной патологии. Выявляемость лиц с подозрением на профес-

сиональные заболевания составила в 2012 г. 0,2 на 1000 обследованных, в 2013 г. 0,3 на 1000 обследованных. При проведении периодических медицинских осмотров сотрудниками клиники профессиональных заболеваний в 2012 г. выявляемость лиц с подозрением на профессиональные заболевания составила 3,5 на 1000 осмотренных, в 2013 г. 6,5 на 1000 осмотренных. Это свидетельствует о низком качестве периодических медицинских осмотров в непрофильных медицинских учреждениях и недосяжении основной профилактической цели данного осмотра – выявления начальных признаков профессиональных заболеваний.

Данный факт обосновывает проведение периодических медицинских осмотров 1 раз в 5 лет в региональных центрах профпатологии, с четким определением клинического статуса, индивидуальной толерантности к профессиональным вредностям и уровня функционального состояния, что в результате может стать основанием для проведения мер предупреждения индивидуального риска развития общих и профессиональных заболеваний.

Отсутствие законодательно закрепленного положения о создании на предприятиях здравпунктов не позволяет проводить профилактические мероприятия даже при выявлении лиц с начальными функциональными нарушениями здоровья.

Таким образом, для укрепления системы обеспечения профессионального здоровья считаем целесообразным законодательно на федеральном уровне ввести необходимость проведения периодических медицинских осмотров 1 раз в 5 лет в региональных центрах профпатологии и утвердить положение о создании на предприятиях с потенциальным риском воздействия вредных производственных факторов, врачебных (фельдшерских) здравпунктов с функцией профилактики профзаболеваний.

УДК 616-057:616.01

Мелентьев А. В.

ОЦЕНКА ЧАСТОТНОГО АНАЛИЗА СЕРДЕЧНОГО РИТМА У РАБОЧИХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ

*ФБУН Федеральный научный центр гигиены
им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора,
Мытищи*

В настоящее время одной из актуальных задач медицины труда является изучение влияния производственных факторов рабочей среды на развитие и течение сердечно-сосудистых заболеваний в связи с тем, что по распространенности и тяжести осложнений кардиоваскулярная патология занимает ведущее место среди причин ограничения

трудоспособности, инвалидизации и смертности населения.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли частотного анализа variability сердечного ритма для определения состояния сердечно-сосудистой системы у рабочих, подвергающихся воздействию шумо-вибрационного фактора.

Проведено обследование 276 рабочих горнодобывающей и машиностроительной промышленности. В зависимости от условий труда было выделено две группы наблюдения. В группу № 1 (144 человека) включены мужчины, контактирующие в процессе трудовой деятельности с виброгенерирующим оборудованием и подвергающиеся воздействию шумового и вибрационного факторов выше предельно допустимого уровня. Группа № 2 состояла из 132 мужчин, не имеющих непосредственного контакта с шумо-виброгенерирующим оборудованием. Средний возраст группы № 1 составлял $53,9 \pm 1,4$ года, а группы № 2 – соответственно $52,4 \pm 1,4$ года.

Всем обследованным было выполнено 24-часовое ЭКГ-мониторирование с анализом variability сердечного ритма (ВСР) по 5-минутным интервалам в дневное и ночное время суток на аппарате ЭКГ CardioDay Holter (Германия). Оценивалась частота сердечных сокращений (ЧСС) и показатели: HF-Norm – спектральная мощность в частотном диапазоне высоких частот и LF-Norm – спектральная мощность в частотном диапазоне низких частот (в нормализованных единицах – н. е.). Высокочастотные колебания преимущественно отражают влияние парасимпатического отдела вегетативной нервной системы на сердечный ритм, низкочастотные колебания – воздействие симпатического отдела вегетативной нервной системы. Статистический анализ проводили с использованием программного пакета «STATISTICA 6.0».

Установлено, что ЧСС в дневное время у обследованных в группе № 1 была значимо выше, чем в группе № 2. Соответственно: $88,0 \pm 1,5$ уд/мин и $81,5 \pm 1,9$ уд/мин ($t=2,72$, $p=0,007$). Кроме того, выявлено преобладание активности симпатической нервной системы в виде резкого увеличения LF-Norm, значение которого составляет $72,1 \pm 2,2$ н. е., что достоверно выше, чем у обследованных группы № 2 – $65,0 \pm 2,1$ н. е. ($t=2,42$, $p=0,03$). Также определено, что в дневное время у обследованных группы № 1 имело место более выраженное по сравнению с обследованными группы № 2 угнетение парасимпатической нервной системы в виде снижения HF-Norm до $14,4 \pm 1,4$ н. е. и $22,8 \pm 1,4$ н. е. соответственно ($t=2,42$, $p<0,001$).

Несколько иные результаты частотных характеристик у обследованных рабочих были получены в ночное время. ЧСС сохранялось в пределах нормальных значений, но значимо выше она выявлялась у работников, подвергающихся локальной вибрации в сочетании с шумовым фактором, и составляла $69,6 \pm 1,1$ уд/мин, против $60,9 \pm 1,0$

уд/мин в группе № 2. Других достоверных отличий при сравнении частотных показателей ВСР в ночное время не получено, но имелась тенденция к увеличению LF-Norm и снижению HF-Norm у обследованных в группе № 1.

Дальнейший анализ частотных характеристик в зависимости от стажа работы выявил истощение вегетативной регуляции миокарда и увеличение ЧСС у высокостажированных рабочих виброопасных профессий. Так, с увеличением стажа работы (более 15 лет) ЧСС увеличивалась до $94,4 \pm 2,2$ уд/мин в группе № 1 и до $87,2 \pm 2,9$ уд/мин в группе № 2, что также было значимо ($t=1,98$, $p<0,05$).

Соотношение LF/HF у работников, подвергающихся воздействию шумо-вибрационного фактора, было выше ($4,0 \pm 0,5$), чем в группе № 2 ($2,8 \pm 0,4$), и с увеличением стажа показатель LF/HF возрастал равномерно в обеих группах.

Кроме того, с увеличением стажа частотные данные свидетельствовали о выраженной активности симпатической нервной системы у работников, подвергающихся воздействию шумо-вибрационного фактора. Даже в условиях ночного покоя выявлялось напряжение регуляторных систем; это, вероятно, происходило при резком снижении функциональных резервов и низких адаптационных возможностей организма у работников, подвергающихся воздействию шумо-вибрационного фактора.

В свою очередь, у рабочих, не контактирующих с виброгенерирующим оборудованием, частотные характеристики ВСР позволили констатировать более сбалансированное взаимодействие парасимпатической и симпатической иннервации миокарда и меньшую вероятность формирования кардионейропатии.

В целом выявлено, что в группе № 1 достоверно преобладало число обследованных, у которых отмечались сниженные параметры ВСР и повышенная среднесуточная ЧСС по сравнению с обследованными группы № 2, составляя 34,2 % и 18,6 % соответственно от числа обследованных ($\chi^2=5,69$; $p=0,017$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у рабочих, длительно контактирующих с шумо-вибрационным фактором, формируются проявления кардионейропатии, заключающиеся в снижении суммарного вегетативного влияния на сердечный ритм и перераспределении его в сторону повышения симпатической активности. В связи с этим лицам, контактирующим с виброгенерирующим оборудованием, необходимо более тщательное обследование сердечно-сосудистой системы и своевременное проведение медико-профилактических мероприятий, направленных на оптимизацию состояния здоровья.

УДК 616-057:616.2

Нененко О. И.

ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ У РАБОЧИХ ПЫЛЕВЫХ ПРОФЕССИЙ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ НАГРУЗОЧНЫХ ПРОБ

ФБУН Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Мытищи

Статья посвящена оценке адаптационных возможностей организма при выполнении физической нагрузки у рабочих пылевых профессий. Приведены результаты теста с шестиминутной ходьбой (6МХ), показатели гемодинамики, насыщения крови кислородом, показатели функции внешнего дыхания и сократительной способности миокарда. Выявлена взаимосвязь адаптационных возможностей организма с состоянием сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Установлено, что изменения структурных и функциональных показателей систем способствует появлению неблагоприятных адаптационных изменений.

Цель: исследовать взаимосвязь адаптационных возможностей у рабочих пылевых профессий.

Методы: исследование проводилось на базе клиники института общей и профессиональной патологии им. Ф. Ф. Эрисмана в г. Мытищи. В исследовании принимали участие 85 пациентов (мужчины) с профессиональной легочной патологией (пневмокоииозы, хроническая обструктивная болезнь легких), средний возраст которых составил 52 года.

Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводилось с использованием спирометра «ЭТОН-01» (Россия, 2007) и определением жизненной емкости легких (ЖЕЛ), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1), максимальных объемных скоростей при выдохе 25 % ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50 % ФЖЕЛ (МОС₅₀), 75 % ФЖЕЛ (МОС₇₅).

Оценка состояния миокарда проводилась на основании результатов эхокардиографии аппаратом Philips HD15 (USA) с определением размеров левого и правого предсердия (ЛП и ПП), конечного систолического и диастолического объема (КСО и КДО), конечного систолического и диастолического размера (КСР и КДР), фракции выброса (ФВ), размеров задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ) и межжелудочковой перегородки (МЖП).

Исследование физических возможностей пациентов проводилось с использованием теста 6МХ с оценкой частоты сердечных сокращений (ЧСС), систолического и диастолического артериального

давления (САД, ДАД), насыщения крови кислородом (сатурация) пульсоксиметром MD300W Medchoice до и после выполнения пробы.

Оценка адаптационных возможностей обследованных определялась с использованием индекса функциональных изменений (ИФИ), по формуле, предложенной Р. М. Баевским и А. П. Берсеневой (1986):

$$\text{ИФИ} = 0,011 \text{ ЧСС} + 0,014 \text{ САД} + 0,008 \text{ ДАД} + 0,014 \text{ В} + 0,009 \text{ МТ} - 0,009 \text{ Р} - 0,27,$$

где В – возраст, МТ – масса тела в кг, Р – рост в см.

Адаптационный потенциал организма расценивался как удовлетворительный при ИФИ до 2,59; напряжению механизмов адаптации соответствовало значение ИФИ в пределах 2,60–3,09; адаптация считалась неудовлетворительной, если ИФИ был от 3,10 до 3,49, а ИФИ более 3,50 означал срыв адаптации.

В исследование не включались пациенты, имевшие в анамнезе нестабильную стенокардию и инфаркт миокарда в течение предыдущего месяца, патологию опорно-двигательного аппарата, ограничивающую их двигательную активность. Также не допускались к тестированию пациенты, у которых исходные показатели АД были больше 180/120 мм рт. ст., а ЧСС меньше 50 уд/мин или больше 120 уд/мин.

В соответствии с исходными значениями ИФИ все пациенты были разделены на 4 группы: первую, с удовлетворительным уровнем адаптации, составили 8 человек; вторую (35 человек), с ИФИ – от 2,6 до 3,09; у 28 пациентов третьей группы адаптация считалась неудовлетворительной (ИФИ – в диапазоне от 3,10 до 3,49), а в четвертую группу (8 человек) были включены пациенты с исходно выявляемым срывом адаптации (ИФИ более 3,5).

Результаты. Средние (M±SD) скоростные и объемные показатели ФВД были значительно выше в первой группе: жизненная емкость легких (ЖЕЛ) составила 97,82±11,22 %, объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) – 96,78±18,8 %, МОС50 – 83,12±30,96 %. В других группах значения этих показателей постепенно уменьшались. Так, во 2 группе ЖЕЛ – 92,8±20,64 %, ОФВ1 – 87,24±24,88 %, МОС50 – 71,53±40,08 %, в 3: ЖЕЛ – 87,50±25,49 %, ОФВ1 – 81,50±30,69 %, МОС50 – 65,25±40,16 %, в 4 группе ЖЕЛ – 78,85±5,35 %, ОФВ1 – 53,85±15,53 %, МОС50 – 24,70±12,20 %.

По данным эхокардиографии, в соответствии с уровнем адаптационных возможностей отмечено постепенное снижение таких функциональных показателей миокарда, как фракция выброса (ФВ). В первой группе она составила 64,28±1,61 %, во второй – 62,20±2,24 %, в третьей – 61,03±1,70 %, в четвертой – 59,50±1,70 %. Выявлены изменения структуры миокарда, показатели которой также отражали соответствующий уровень адаптации. Толщина левого предсердия (ЛП) в 1 группе составляла 3,53±0,29 см, 2 – 3,65±0,29 см, в 3 – 3,75±0,21 см,

в 4 – $3,85 \pm 0,05$ см. Толщина межжелудочковой перегородки (МЖП) в 1 группе – $1,02 \pm 0,11$ см, во 2 группе – $1,13 \pm 0,11$ см, в 3 группе – $1,23 \pm 0,15$ см и в 4 группе – $1,22 \pm 0,12$ см. Толщина задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ) в 1 группе – $1,04 \pm 0,06$ см, во 2 – $1,09 \pm 0,09$ см, в 3 – $1,15 \pm 0,10$ см, в 4 – $1,15 \pm 0,05$ см.

Среднее значение ($M \pm SD$) пройденного пути при выполнении теста с 6-минутной ходьбой в первой группе составила $479 \pm 54,8$ м, второй – $468,00 \pm 64,68$ м, третьей – $446,99 \pm 52,55$ м, четвертой – $476,78 \pm 38,17$ м.

Средние показатели насыщения крови кислородом по результатам пульсоксиметрии до проведения пробы составили в 1 группе $95,0 \pm 1,22$ %, во 2 – $95,2 \pm 1,70$ %, в 3 – $94,2 \pm 2,69$ %, в 4 – $97,0 \pm 0,82$ %. После проведения пробы уровни сатурации в группах существенно не отличались: в 1 группе $94,75 \pm 0,66$ %, во 2 – $94,37 \pm 2,84$ %, в 3 – $94,38 \pm 2,49$ %, в 4 – $96,34 \pm 2,62$ %.

До выполнения пробы показатели САД в первой группе – $117,50 \pm 6,61$ мм.рт.ст, во второй – $127,11 \pm 7,91$ мм рт. ст., в третьей – $137,86 \pm 10,04$ мм рт. ст., в четвертой – $140,0 \pm 14,14$ мм рт. ст. После нагрузки отмечен прирост показателей на 7,9 %, 10,0 %, 4,0 %, 16,6 % соответственно. Исходное ДАД в первой группе – $81,88 \pm 6,09$ мм рт. ст., во второй – $82,43 \pm 5,4$ мм рт. ст., в третьей – $85,54 \pm 10,12$ мм рт. ст., в четвертой – $90,0 \pm 8,16$ мм рт. ст. После выполнения теста с 6МХ прирост показателей отмечен преимущественно в первой и второй группах на 3,8 % и 4,3 % соответственно, в третьей группе прирост оказался незначительным – 0,6 %, в четвертой же группе выявлено снижение ДАД на 3,7 %. ЧСС в обследуемых группах на фоне проведения пробы увеличилась, причем больший прирост, на 25,87 %, был отмечен во второй группе с $75,20 \pm 8,12$ до $94,66 \pm 11,75$ уд/мин. В первой ЧСС увеличилась на 15,9 %, в третьей – на 17,13 %, в четвертой – на 19,42 %.

С учетом изменений показателей гемодинамики после проведения пробы с 6-минутной ходьбой ИФИ увеличился в группах на 11,5 %, 14,4 %, 7,0 %, 14,7 % соответственно.

Заключение: на основании полученных данных можно прийти к выводу, что у обследованных пациентов с пылевой патологией от воздействия фиброгенной пыли снижению адаптационных возможностей способствуют вентиляционные нарушения, а также сократительная способность миокарда. При этом более выраженные изменения показателей дыхательной и сердечно-сосудистой систем отражают соответствующую степень адаптационных способностей, что проявляется в снижении толерантности к физической нагрузке.

УДК 613.6.027

Райкин С. С., Новикова Т. А.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ АДАПТАЦИИ У ТРАКТОРИСТОВ-МАШИНИСТОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

*ФБУН Саратовский НИИСТ
Роспотребнадзора,
Саратов*

В процессе жизни любой человек непрерывно подвергается воздействию различных факторов окружающей среды различной интенсивности. К этим постоянно изменяющимся воздействиям человеку приходится постоянно адаптироваться для достижения устойчивого уровня активности организма, при котором возможно длительное продуктивное функционирование, включая трудовую деятельность. Работа во вредных и опасных условиях труда оказывает отрицательное воздействие на организм работника. Длительное воздействие приводит к истощению адаптационных резервов организма, что снижает способность адекватно реагировать на социально-трудовые и повседневные нагрузки. А именно адаптационные возможности организма рассматриваются как мера здоровья рядом авторов (Баранов В. М., Баевский Р. М., Берсенева А. П., Михайлов В. М., 2004).

Сельское хозяйство традиционно входит в перечень отраслей со вредными условиями труда. В своей трудовой деятельности работники сельского хозяйства подвергаются сочетанному воздействию широкого спектра вредных факторов производственной среды, способных снижать неспецифическую резистентность организма, ускорять инволютивные процессы, запускать патогенетические механизмы формирования профессиональных, производственно обусловленных и общесоматических заболеваний, ведущих к утрате трудоспособности и инвалидности. Вредные факторы условий труда различны для конкретных профессий, отличаются по уровням, продолжительности воздействия и обусловлены отраслевыми особенностями сельскохозяйственного производства (Варшамов Л. А., Безрукова Г. А., Спирын В. Ф., Новикова Т. А., 2011).

Работающие в профессии тракторист-машинист сельскохозяйственного производства (механизаторы сельского хозяйства) являются одной из профессиональных групп с высоким риском развития профессиональной патологии различных органов и систем. При работе на сельскохозяйственной технике механизаторы сельского хозяйства подвергаются целому ряду профессиональных рисков для их здоровья. Это повышенные уровни шума и вибрации, пыль (органическая и минеральная), выхлопные газы, микроклиматический дискомфорт в кабинах, физические и эмоциональные на-

грузки. Воздействие вредных факторов условий труда может приводить к развитию функциональных нарушений в деятельности отдельных органов и систем организма, снижению адаптационных возможностей и развитию преморбидных состояний и патологических изменений, способствующих развитию производственно обусловленных и профессиональных заболеваний (Буянов Е. С., Новикова Т. А., 2011).

За последние 10 лет в Саратовской области, главным образом, из-за сокращения производства и банкротства сельхозпредприятий число работников аграрного сектора сократилось более чем на треть. Уровень зарегистрированной на территории области профессиональной заболеваемости работников сельского хозяйства продолжал оставаться стабильно высоким по сравнению со среднеотраслевым и колебался в пределах 3,57 – 5,85 на 10 тыс. работающих. По разным годам наблюдения уровень профессиональной заболеваемости среди механизаторов сельского хозяйства также был подвержен значительным колебаниям и составлял от 1,9 до 5,7 на одну тысячу работников, что соответствует сверхвысоким значениям. Более чем в половине случаев (56 %) у работающих в профессии тракторист-машинист сельскохозяйственного производства первично выявлялась сочетанная профпатология – два диагноза и более, что указывало на позднюю диагностику и низкое качество профилактических мероприятий, проводимых медицинскими организациями на местах (Варшамов Л. А., Безрукова Г. А., Спиринов В. Ф., Новикова Т. А., 2011).

Цель исследования: изучение динамики показателей адаптации механизаторов сельского хозяйства для применения методик определения уровней адаптации, параллельно с периодическими медицинскими осмотрами для наиболее ранней индикации групп риска среди стажированных работников.

Оценка уровней показателей адаптации проводилась в группе трактористов-машинистов сельскохозяйственного производства (механизаторов сельского хозяйства), работающих в хозяйствах Саратовской области. Было обследовано 85 механизаторов. Средний стаж работы в обследованной группе составил $19,6 \pm 11,6$ года. Средний возраст обследованных механизаторов был $42,3 \pm 11,1$ года. Для оценки адаптации организма механизаторов сельского хозяйства применялся ряд методик, оценивающих уровень адаптированности организма к повседневным нагрузкам:

- адаптационный потенциал системы кровообращения (Баевский Р. М., с соавт., 1987). Для оценки адаптационного потенциала применялась следующая шкала: удовлетворительная адаптация – до 2,59; напряжение механизмов адаптации – 2,6–3,09; неудовлетворительная адаптация – 3,1–3,49; срыв механизмов адаптации – 3,5 и более;
- индекс физического состояния (Пирогова Е. А., 1986). Оценка ИФС проводилась с учетом приня-

тых градаций по уровням: низкий уровень – менее 0,375; ниже среднего – от 0,376 до 0,525; средний – от 0,526 до 0,675; выше среднего – от 0,675 до 0,825; высокий – более 0,825.

Данные методики выбраны по критерию минимального набора показателей, необходимых для расчёта, поскольку подразумевается внедрение наиболее информативных и простых методов оценки состояния организма в программу периодических медицинских осмотров, для донологической диагностики и выявления групп риска среди стажированных работников.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с помощью электронных таблиц Microsoft и программы «Statistica 10». Были рассчитаны средняя арифметическая (M) и стандартное отклонение (SD), медиана (Me) и интерквартильный размах. Достоверность различий уровней показателей в подгруппах определяли по U критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Средний уровень адаптационного потенциала по Р. М. Баевскому (с соавт., 1987) в группе обследованных механизаторов составил $3,04 \pm 0,50$, а медиана – 3,02, что соответствует уровню напряжения механизмов адаптации. При этом интерквартильный размах был от 2,65 до 3,37. Эти значения относятся к состояниям напряжения адаптации и неудовлетворительной адаптации, когда организму приходится включать дополнительные внутренние резервы для обеспечения продолжительного функционирования организма в данных условиях. Необходимо заметить, что при удовлетворительных средних значениях данного показателя 18,8 % обследованных механизаторов находились в состоянии срыва адаптационных возможностей.

Для более глубокого изучения динамики уровня адаптационного потенциала группа обследованных механизаторов сельского хозяйства была разделена по стажу работы в профессии на десятилетние когорты. В группе со стажем работы до 10 лет не было выявлено срывов адаптации. Неудовлетворительная адаптация отмечена у 6,25 %. В группе со стажем работы от 10 до 19 лет отмечено резкое (более чем в 3,5 раза) возрастание доли обследованных с неудовлетворительной адаптацией с 6,25 % до 23,08 %. В дальнейшем также отмечается рост числа лиц с неудовлетворительной адаптацией, но не столь значительный. В группах со стажем работы 20–29, 30 и более лет неудовлетворительная адаптация выявлена у 36 % и 38,9 % соответственно.

Срыв адаптационных возможностей организма впервые отмечается в группе со стажем работы от 10 до 19 лет (у 11,5 %). В дальнейшем, аналогично предыдущей категории, выявлено нарастание процента срывов адаптационных возможностей организма. В группах со стажем 20–29, 30 и более лет срыв адаптации был у 16 % и 50 % соответственно.

Уровни адаптационного потенциала в группах со стажем работы в профессии более 20 и более 30 лет достоверно выше уровней адаптационного потенциала в группе со стажем работы до 10 лет ($p=0,003594$ и $p=0,000001$).

Индекс физического состояния по Е. А. Пироговой (1986) в обследованной группе составил в среднем $0,40 \pm 0,2$, медиана – 0,41, верхняя и нижняя квартиль – 0,30 и 0,52 соответственно. Эти значения относятся к низкому уровню физического состояния и ниже среднего. С увеличением стажа работы в профессии увеличивалось число лиц с уровнями физического состояния низким и ниже среднего. Уровни показателей индекса физического состояния достоверно ниже в группах со стажем работы 20–30 и более 30 лет ($0,39 \pm 0,13$ и $0,22 \pm 0,21$) от уровней в группе со стажем до 10 лет ($0,51 \pm 0,17$) ($p=0,0486$ и $p=0,0005$).

В группе со стажем до 10 лет 56,25 % механизаторов имели низкие уровни физического состояния, при стаже от 10 до 19 лет – 69,33%, а в группах 20–29 и более 30 лет – 84,0 % и 94,44 % соответственно. Механизаторы с уровнями физического состояния высоким и выше среднего в группе со стажем работы до 10 лет составили 12,5 %, в группе со стажем 10–19 лет – 7,7%, а в группах с большим стажем работы таких механизаторов не было. Проведенное исследование позволяет подтвердить полученные в исследованиях других авторов результаты, что работа во вредных условиях труда приводит к снижению адаптационных возможностей.

Значительное напряжение компенсаторных механизмов приводит к истощению внутренних резервов организма, когда репаративные процессы не могут компенсировать воздействия, оказываемого производственной средой. Особенно резкое снижение адаптации отмечается у механизаторов сельского хозяйства со стажем работы в профессии от 10 до 19 лет. Именно в этот период начинают выявляться профессиональные заболевания и часть лиц с наиболее выраженными нарушениями здоровья, выводится из профессии. В профессии остаются наиболее адаптированные к данным условиям труда, однако и их здоровье при продолжающемся воздействии вредных факторов производственной среды со временем продолжает ухудшаться. У работников на фоне сниженной адаптации усиливаются инволютивные процессы, развиваются не только специфические профессиональные и профессионально обусловленные заболевания, но и ускоряется общее старение организма. На наш взгляд, будет интересно проанализировать у работающих во вредных и опасных условиях труда наряду с динамикой адаптационных возможностей изменение биологического возраста. Определение статуса биологического возраста и состояния адаптации у работающих во вредных условиях может позволить дифференцировать лиц с повышенными нагрузками на организм ещё до развития профессиональных и профессионально обусловленных нозологий, выделить их в груп-

пу усиленного диспансерного наблюдения. Применение на практике медицинскими работниками методик определения адаптационного статуса у стажированных работников может улучшить выявление лиц, относящихся к группам диспансерного наблюдения.

УДК 613.6.001.53

Скоропись Е. В.

ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У РАБОЧИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАШИНОСТРОЕНИЯ РКК «ЭНЕРГИЯ»

ФБУН Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Мытищи

В процессе производственной деятельности человек подвергается влиянию различных вредных факторов химической, физической, биологической природы, что приводит к снижению работоспособности и возникновению профессиональных заболеваний.

Изучение причинно-следственных зависимостей влияния факторов окружающей и рабочей среды на здоровье трудящихся, разработка информативных критериев оценки их функционального состояния относится к актуальным проблемам медицины труда. Позднее выявление начальных признаков профессиональных заболеваний и соответственно поздно начатое и малоэффективное лечение приводит к ограничению трудоспособности, а в дальнейшем – и к инвалидности.

Одним из показателей ухудшения здоровья работающих являются продолжающийся рост производственно обусловленных заболеваний, значительное утяжеление первично выявляемой патологии, преобладание хронических заболеваний.

Во многом рост профессиональной заболеваемости связан с высокой долей работников, занятых во вредных условиях труда: в различных отраслях производства колеблется от 12 до 44 %. Вместе с тем необходимо отметить, что статистический уровень профессиональной заболеваемости не отражает истинной ситуации, что связано с недостаточной верификацией профессиональных заболеваний. На хронические профзаболевания и отравления приходится 98 % от общего числа профзаболеваний и отравлений. Причем за последние годы четко проявляется тенденция роста числа профессиональных заболеваний с преобладанием тяжелых форм и ранней инвалидизации. Наиболее высокие показатели профессиональной заболеваемости регистрируются в следующих отраслях эко-

номики: угольной промышленности, строительном дорожном машиностроении, тяжелом машиностроении, цветной металлургии.

К вредным и опасным факторам в экспериментальном машиностроении относятся: ультрафиолетовое и инфракрасное излучение источников нагрева и нагретых деталей; электромагнитные поля, ультразвук, ионизирующее излучение, запыленность и загазованность воздуха. При пайке, напылении, выплавке припоев и флюсов в окружающую среду поступают аэрозоли, содержащие в составе твердой фазы окислы металлов (марганца, хрома, никеля, железа, меди, алюминия), а также токсичные газы (окись углерода, фтористые, хлористые, бромистые соединения, окислы азота). В составе аэрозолей могут быть составляющие флюсов и припоев, содержащих свинец, кадмий, цинк, олово, углеводороды. Количество аэрозолей, их токсичность зависят от состава припоев, флюсов, технологии и степени механизации производства.

Существенный вклад в развитие профессиональных заболеваний вносит свинец. Свинец относится к ядам политропного действия. Поступление токсических веществ в организм через органы дыхания – наиболее важный и потенциально опасный путь загрязнения организма человека в производственных условиях. Осаждение пылевых частиц в дыхательном тракте происходит в результате трех процессов: инерционного осаждения, седиментации и диффузии. Каждый из этих процессов осуществляется на определенном участке дыхательных путей. Вероятность осаждения пылинок в определенных участках дыхательного тракта связана с их размером.

По данным различных авторов, резорбция свинца в кровь из дыхательных путей происходит довольно быстро и в течение первых суток свинец полностью проникает в кровь.

Наиболее ранними признаками действия свинца на организм считают изменения биосинтеза порфиринового обмена. Установлено, что соединения свинца блокируют превращение дельта-аминолевулиновой кислоты в порфобилиноген за счет ингибирования фермента дегидратазы дельта-аминолевулиновой кислоты, а также включение железа в протопорфирин 9 за счет ингибирования феррохелатазы. Блокирование ряда этапов синтеза гемма приводит к снижению активности ферментов: дегидратазы дельта-аминолевулиновой кислоты в эритроцитах, феррохелатазы, копрогеназы и повышению концентрации ряда показателей порфиринового обмена.

Свинец нарушает процесс утилизации железа и синтез глобина, действует непосредственно на эритроциты, что приводит к их ускоренной гибели. В ответ на это наблюдаются компенсаторная активация эритропоэза и повышение содержания ретикулоцитов. При действии свинца у человека ослабевает антиоксидантная защита и возможно развитие оксидативного стресса. Дальнейшее уве-

личение уровня свинца может привести к необратимым последствиям в организме рабочих.

Использование методов лабораторной диагностики для неблагоприятного воздействия свинца на организм рабочих имеет большое значение, так как позволяет выявить ранние доклинические признаки отравления свинцом у профессиональных рабочих. Для раннего выявления факторов риска и возможной угрозы здоровью существует необходимость организации безопасных условий труда и проведения медицинских осмотров (с целью выявления ранней профессиональной патологии).

УДК 614.715

Федоров В. Н., Зибарев Е. В., Чашин В. П., Масалова В. И.

БОЛЕЗНИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КАК ИНДИКАТОР ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА (НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫБРОСОВ АСТРАХАНСКОГО ГАЗОВОГО КОМПЛЕКСА)

*ФБУН «Северо-западный научный центр
гигиены и общественного здоровья»,
Санкт-Петербург*

Наиболее чувствительной к загрязнению атмосферного воздуха системой организма человека является дыхательная система. Загрязнение атмосферного воздуха является одной из причин роста числа случаев заболеваний органов дыхания. Значительно более выраженное неблагоприятное воздействие загрязнения атмосферного воздуха на органы дыхательной системы проявляется у детей. В связи с этим сравнительный анализ показателей заболеваемости патологиями органов дыхания у детей может, наряду с другими критериями, служить диагностическим критерием качества воздуха.

Целью данного исследования явился анализ показателей заболеваемости взрослого и детского населения и состояния дыхательной системы детей, проживающих в Астраханской области в зоне влияния Астраханского газового комплекса ОАО «Газпром добыча Астрахань». Были выделены 2 группы детского населения: экспонируемая, проживающая в непосредственной близости к Астраханскому газовому комплексу ОАО «Газпром добыча Астрахань» (населенные пункты Комсомольский, Сеитовка, Бузан, Новоурусовка, Нариманов) и контрольная, проживающая на значительном удалении от источников выбросов (населенные пункты Буруны, пойменный, Тулугановка). Характерным для всех населенных пунктов является отсутствие выраженных источников загрязнения атмосферного воздуха, за исключением

Астраханского газового комплекса у экспонируемой группы.

Показатели заболеваемости населения в отдельных населенных пунктах оценивались на основании данных статистической отчетности по Форме 12 за период с 2006 года по 2011 год. Сведения были получены от ГБУЗ Астраханской области «Красноярская ЦРБ» и ГБУЗ Астраханской области «Наримановская ЦРБ». Помимо заболеваний органов дыхания, в качестве наиболее значимых групп заболеваний были выделены также такие классы болезней, как болезни нервной системы, органов пищеварения, системы кровообращения, врожденные аномалии и новообразования в соответствии с МКБ-10.

Достоверность различий показателей заболеваемости во всех случаях определялась с применением t-критерия Стьюдента.

Оценка состояния дыхательной системы у детей проводилась опросно-анкетным способом с применением опросника, специально разработанного для целей и задач данного исследования. Анкета разработана на основе рекомендаций ВОЗ для оценки респираторных нарушений у детей 8–15 лет. Основная цель анкетирования детей состояла в выявлении признаков респираторных нарушений, их сезонности и степени выраженности.

Анкета содержала 11 вопросов, разбитых на 3 основные группы: астматические симптомы, аллергические проявления на уровне носоглотки и аллергические проявления на коже. Сравнительный анализ доли положительных ответов на вопросы анкеты позволил оценить степень различий распространенности заболеваний дыхательной системы и аллергических заболеваний среди детей в экспонируемой и контрольной группах.

Анкетирование детского населения проводилось совместно с преподавателями средних школ во время учебных занятий в каждом из населенных пунктов, и родителями детей, включенных в исследование. Общий размер выборки детей, принявших участие в исследовании, составил 546 человек, из которых 345 детей в экспонируемой и 201 – в контрольной группах.

Проведенный анализ динамики показателей заболеваемости взрослого населения в изученных населенных пунктах позволил выявить следующие закономерности динамики заболеваемости.

Динамика частоты болезней нервной системы среди населения экспонируемой группы аналогична временным трендам как по области в целом, так и по Красноярскому району Астраханской области. Исключения составляют показатели заболеваемости в п. Сеитовка, частота которых в 2007–2010 гг. оказалась значительно выше. Тем не менее линейный тренд заболеваемости по п. Сеитовка демонстрирует снижение этих показателей в период с 2006 г. по 2012 г.

Показатели заболеваемости органов дыхания в половине экспонируемых населенных пунктов, а также районные показатели оказались ниже,

чем среднеобластные показатели. В то же время в пос. Буруны (контрольная группа) эти показатели существенно выше и имеют тенденцию к росту. Более высокие, чем среднерайонные и среднеобластные, показатели наблюдаются у населения г. Нариманов.

Динамика заболеваемости органов пищеварения и ее показатели в населенных пунктах Бузан и Комсомольский близки к средним областным и районным показателям. Выявлено отличается заболеваемость в п. Сеитовка и Досанг. В целом по изучаемым населенным пунктам наблюдается тенденция к снижению.

Наблюдается тенденция к снижению показателей заболеваемости болезнями органов кровообращения; это характерно для всех населенных пунктов, а также средних районных показателей. При этом показатели заболеваемости среди населения из числа как экспонируемой группы в целом, так и из отдельных населенных пунктов из числа экспонируемых остаются существенно выше средних областных. Примечательно, что аналогичные показатели заболеваемости населения в п. Буруны также выше среднеобластных.

Наблюдается стабильная временная динамика частоты случаев врожденных аномалий среди населения Красноярского района (экспонируемая группа), при этом не отмечается ни выраженных подъемов, ни спадов показателей. Показатели заболеваемости по отдельным населенным пунктам из экспонируемой группы в целом несколько выше средних значений по области. На фоне других выделяются аналогичные показатели в п. Буруны (контрольная группа), которые значительно ниже как областных, так и районных, а также показатели по г. Нариманов (экспонируемая группа), которые, напротив, выше областных и районных и при этом демонстрируют выраженную тенденцию к росту.

Динамика показателей частоты новообразований у населения такова: показатели экспонируемой и контрольной групп не обнаружили значимых различий как между собой, так и в сравнении с областными и районными показателями.

Показатели заболеваемости и их динамика у детей в изученных группах в целом аналогичны таковым среди взрослого населения. Исключения составляют показатели заболеваемости болезнями органов пищеварения и кровообращения, которые ниже, чем у взрослых, что в целом характерно для детей.

Заболеваемость новообразованиями среди детского населения как экспонируемой, так и контрольной группы не имеет выраженной тенденции, особенно по п. Сеитовка и району в целом. При этом для наиболее экспонируемых населенных пунктов – п.п. Комсомольский и Бузан – эти показатели ниже областных и районных.

Анализ результатов анкетного опроса детей, проведенный в контрольной и экспонируемой группах, показал, что частота предъявления жалоб детей на респираторные нарушения и аллергиче-

ские реакции в большинстве изучаемых населенных пунктах не имела существенных различий. Исключение составила лишь группа опрошенных детей из пос. Сеитовка, в которой почти половина детей указала на наличие характерных респираторных симптомов, что в определенной мере соответствует данным, полученным в результате статистического анализа показателей заболеваемости населения этого поселка.

Анализ показателей состояния дыхательной системы детей и их аллергологического статуса показал в целом схожие результаты в контрольной и экспонируемой группах. Достоверных различий на основании доверительного интервала обнаружено не было, в связи с чем можно констатировать однородность выборки по этим признакам.

Сравнение средних данных по контрольной и экспонируемой выборке детей позволяет констатировать, что доля положительных ответов имеет близкие значения по всем анализируемым вопросам, а границы доверительного интервала ответов среди контрольной и экспонируемой групп также взаимоперекрываются по всем вопросам анкеты.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1) не обнаружено статистически значимого (достоверного) различия в показателях состояния дыхательной системы и аллергологического статуса среди детей контрольной и экспонируемой групп;

2) несмотря на это, установлена зависимость показателей заболеваемости патологиями органов дыхания и загрязнением атмосферы среди населения, проживающего в г. Нариманов, где выявлена статистически значимая связь;

3) различия в показателях заболеваемости различными патологиями, в том числе органов дыхания, среди населения контрольной и экспонируемой групп не имеют системного характера. С учетом того, что в некоторых контрольных населенных пунктах (Буруны) показатели заболеваемости некоторыми патологиями выше, чем в экспонируемой группе, следует предположить, что загрязнение атмосферного воздуха не является главным неблагоприятным фактором в данном регионе.

УДК 616.21:616.5:576.8-078:616-051

**Фищенко Р. Р., Бадамшина Г. Г.,
Бакиров А. Б., Красовский В. О.**

ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ВОЗДУХА И МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ С ПОВЕРХНОСТЕЙ ОБОРУДОВАНИЯ И ИНВЕНТАРЯ В КРУПНОМ МНОГОПРОФИЛЬНОМ МЕДИЦИНСКОМ УЧРЕЖДЕНИИ

*ФБУН «Уфимский
научно-исследовательский институт
медицины труда и экологии человека»,
Уфа*

Госпитальная среда является одной из наиболее благоприятных сред для колонизации воздуха рабочей зоны условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. При кашле и чихании пациентов лечебно-профилактических учреждений в воздушную среду могут выбрасываться мельчайшие капельки-аэрозоли, содержащие возбудителей инфекционных заболеваний, передающихся воздушно-капельным путем. Скопление и циркуляция микроорганизмов в воздухе медицинских учреждений является одной из причин возникновения внутрибольничных инфекций.

Воздействию инфекционных агентов, присутствующих в воздухе рабочей зоны, подвергаются как пациенты, так и медицинские работники, которые впоследствии сами могут являться источником возникновения госпитальных инфекций. Исследования в области взаимодействия организма человека с населяющими воздух микроорганизмами могут способствовать выработке новых подходов к диагностике и профилактике внутрибольничных инфекций.

Для решения поставленной задачи были выполнены микробиологические исследования проб воздуха, отобранного в помещениях детской многопрофильной больницы (n=30). Отбор проб осуществляли в течение рабочего времени, перед использованием бактерицидных облучателей типа «Дезар», по принципу «конверта» с применением импактора воздуха микробиологического «Флора-100». Общее микробное число (ОМЧ) воздуха рабочей зоны определялось в помещениях ординаторских, постов и процедурных кабинетов.

Полученные значения ОМЧ сравнивали со значениями, установленными нормативными документами (СанПиН 2.1.3.1375-03 г. «Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров»). Выделение и подсчет выросших микроорганизмов осуществляли общеизвестными методами с использованием современных питательных сред фирмы HiMedia (Индия), идентификацию чистых культур – общепринятыми методами посредством тест-систем

фирмы «Lachema» (Чехия) и пластин биохимических, дифференцирующих энтеробактерии и стафилококки – ПБДЭ, ПБДС (Н. Новгород).

Статистическая обработка проведена с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel» с определением средних величин (M) и стандартной ошибки средней (m). Для количественной оценки обсемененности воздуха рабочей зоны различными видами микроорганизмов рассчитана частота их встречаемости, выраженная в процентах и отнесенная к общему числу проб.

При анализе уровня ОМЧ воздуха рабочих помещений больницы установлено, что общее содержание микроорганизмов находилось в пределах от 1100 КОЕ/м³ до 2500 КОЕ/м³ и в среднем составляло 1850±350 КОЕ/м³. Максимальные количественные уровни обсемененности обнаружены на постах (2000 КОЕ/м³) и в процедурных кабинетах, в период их работы (2500 КОЕ/м³). Минимальные уровни обсемененности зарегистрированы в помещениях ординаторских (1100 КОЕ/м³). Необходимо отметить, что общее содержание микроорганизмов в воздухе рабочей зоны больницы превышало значения, установленные в нормативной документации для данной категории помещений (до 1000 КОЕ/м³).

В составе бактериальной микрофлоры воздуха доминировали постоянные обитатели слизистых оболочек и кожных покровов человека – представители рода *Staphylococcus* (63,2±11,1 % проб). Общее содержание стафилококков в воздушной среде помещений колебалось от 1040 КОЕ/м³ (в помещениях ординаторских) до 1360 КОЕ/м³ (в процедурных кабинетах). Наиболее распространенными были микроорганизмы вида *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*, которые обнаруживались в 59,2±11,3 % и 30,9±10,6 % проб соответственно. Несколько реже встречались *S. saprophyticus* (в 5,0±5,0 % случаев) и *S. capitis* (в 4,9±4,9 % случаев). Бактерии рода *Staphylococcus* доминировали как в пробах воздуха, так и в пробах, взятых с поверхностей интерьера и оборудования. Необходимо отметить, что вид *S. epidermidis* также часто выделяли с поверхностей объектов интерьера и оборудования (в 75,0±9,9 % случаев).

Бактерии рода *Streptococcus* в количествах, не превышающих 10 КОЕ/м³, были обнаружены в воздухе рабочей зоны в 50,0±11,5 % проб. Другие грамположительные кокки, выделенные из воздуха рабочей зоны медицинских работников в 5,0±5,0 % случаев, обнаруживали во всех помещениях примерно в равных количествах. Так, например, обсемененность бактериями рода *Micrococcus* и *Enterococcus* в среднем составляла 2 КОЕ/м³. На предметах интерьера и оборудования микроорганизмы вышеуказанных видов встречались в значительно меньшей степени (в 2,0±2,0% проб).

Важно отметить, что периодически в пробах, отобранных с поверхностей, обнаруживали возможных возбудителей оппортунистических инфекций, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*

(*Echerischia coli* в 7,0±3,6 % случаев, *Enterobacter spp.* и *Citrobacter spp.* – в 2,0±2,0 % случаев). Среди грамотрицательных неферментирующих палочек, изолированных с поверхностей оборудования, в 10,0±4,3 % случаев диагностировали микроорганизмы рода *Pseudomonas*. Вышеуказанные микроорганизмы при определенных условиях могут быть возбудителями инфекционных заболеваний органов дыхания и желудочно-кишечного тракта.

Среди представителей микрофлоры, выделенных из воздуха помещений больницы, значительный удельный вес занимали дрожжеподобные грибы рода *Candida* (14,5±8,0 % случаев), максимальная обсемененность которыми в процедурных кабинетах достигала значений 240 КОЕ/м³. Следует отметить, что в структуре выделенных дрожжеподобных грибов преобладали следующие виды: *Candida albicans* (80,0±9,2 % случаев), *Candida tropicalis* (в 10,0±6,9 % случаев), *Candida kruzei* (в 10,0±6,9 % случаев). Обращает на себя внимание то, что в большинстве случаев частота обнаружения отдельных видов микроорганизмов на поверхностях интерьера и оборудования была выше, чем в воздухе, однако грибы рода *Candida* чаще встречались в воздухе рабочей зоны (83,3±9,4 %), чем на поверхностях предметов и оборудования (10,0±4,3 %).

Среднее содержание плесневых грибов в воздухе рабочей зоны медицинских работников составляло 1,7 КОЕ/м³. Плесневые грибы, представленные преимущественно грибами рода *Aspergillus*, чаще обнаруживались в помещениях ординаторских и на постах (80,0±13,3 % случаев). Необходимо отметить, что содержание грибов рода *Candida* и *Aspergillus* не допустимо как в воздухе рабочей зоны, так и на предметах оборудования и инвентаря.

Таким образом, в результате изучения общей обсемененности микроорганизмами воздуха и смывов с поверхностей интерьера и оборудования найдено превышение общего микробного числа в большинстве помещений детской многопрофильной больницы. В воздухе рабочей зоны помещений выявлено увеличение общей микробной численности микроорганизмов, относящихся к условно-патогенным. При этом отмеченное видовое разнообразие стафилококков и грибов рода *Candida*, способных вызвать вторичные воспалительные заболевания при колонизации ими слизистых оболочек и кожи медицинских работников и пациентов, может быть предпосылкой для развития внутрибольничных инфекций. В целях предупреждения внутрибольничных инфекций и распространения бактерионосительства патогенных и условно-патогенных микроорганизмов среди медицинского персонала необходима разработка мер профилактики с учетом видовых свойств штаммов микроорганизмов, выделенных в воздухе рабочей зоны и на предметах инвентаря.

УДК 613.6.02

Хисамиев И. И.,¹ Овсянникова Л. Б.,²
Красовский В. О.,² Степанов Е. Г.¹

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ РИСКИ У ВОДИТЕЛЕЙ ОБЩЕСТВЕННОГО ТРАНСПОРТА

¹Управление Роспотребнадзора по Республике
Башкортостан,

²ФГБОУ ВПО Башкирский государственный
медицинский университет,
Уфа

Проблема сохранения профессионального здоровья водителей общественного транспорта и создания безопасных условий труда является весьма актуальной в наше время. В ходе выполнения трудовой деятельности на водителя воздействует комплекс вредных факторов производственной среды. В структуре неблагоприятных факторов, оказывающих вредное воздействие на здоровье, наибольший удельный вес имеют шум, инфразвук, напряженность трудового процесса, вибрация и химический фактор.

В условиях рыночной экономики здоровье становится одним из решающих экономических факторов. В последние годы наметилась тенденция роста профессиональной патологии и у водителей пассажирского транспорта, в основном автобусов. Вместе с тем в большинстве опубликованных работ не решается проблема условий труда и сохранения здоровья водителей городского транспорта в современных условиях.

Одним из наиболее распространенных неблагоприятных факторов является шум. Основным его источником в кабине автобуса является двигатель с вентилятором системы охлаждения и выпускным трубопроводом. Существенный вклад в общий уровень шума вносит шумовой климат среды движения. За последние годы отмечается снижение уровня шума в кабинах автобусов за счет обновления парка новыми моделями автотранспортных средств с улучшенной амортизацией, шумоизоляцией кабин и другими улучшенными техническими характеристиками.

Практически все исследователи подтверждают выявленную закономерность увеличения шума с возрастанием скорости движения и изношенности автомобиля, причем при разгоне преобладает шум от выхлопной системы двигателя. Также учеными нашей страны проводились гигиенические исследования на рабочих местах водителей общественного транспорта с измерением шума на рабочих местах одновременно с изучением состояния здоровья водителей и установлено, что превышение предельно допустимых уровней шума может вызывать у работника снижение слуховой чувствительности, изменения в сердечно-сосудистой и вегетативной нервной системах.

И. Г. Шевкун (2009) отмечено, что эквивалентные уровни звука в автобусах различных марок, особенно в маршрутках, варьируют от 58 до 87 дБА (ПДУ – 60 дБА). Наиболее высокие превышения (до 27 дБА) регистрировались в автобусах Scania, Volvo, Mercedes – Benz, что, возможно, обусловлено стандартами производителя и ещё раз подчёркивает актуальность проблемы гармонизации отечественных гигиенических нормативов с зарубежными нормами.

Парк уфимского пассажирского автотранспорта в основном состоит из автобусов Нефтекамского производства «НЕФАЗ» и маршрутных такси – на шасси ГАЗ–32214/ГАЗ–322174 типа «Газель». Известно, что к ведущим производственным факторам, определяющим всю картину клинических последствий у водителей, относится воздействие общей вибрации (транспортно-технологическая и технологическая – категории 1 и 3). Наши исследования 2013 г. в автобусах «НЕФАЗ» показали, что на холостых оборотах двигателя (на стоянке, 2/3 от максимального числа оборотов) требования санитарных правил по гигиене труда водителей автомобилей № 4616–86 к уровням шума и вибрации соблюдаются. При передвижении автобуса отмечаются снижение виброгасящих свойств сидений, повышение уровней шума. Так, эквивалентные уровни шума в кабинах изменялись в пределах от 62 до 78 дБА и соответственно превышали допустимый уровень на 2-18 дБА (класс вредности 3.1–3.3 по Руководству Р. 2.2.2006-05). Данные факты во многом обусловлены условиями маршрута, зависят от множества причин и обстоятельств: техническое состояние двигателя, мощность транспортного потока, дорожное покрытие и т. д.

Как известно, основными источниками загрязнения воздушной среды кабины автобуса химическими веществами являются: двигатель, картер, карбюратор, бензобак, воздух придорожной зоны. Главный загрязнитель – отработавшие газы двигателя самого автобуса и газы, попадающие в кабину из придорожной зоны. Так как автобусы марки «НЕФАЗ» используют дизельное топливо, то в воздушной среде кабины автобуса нами был осуществлен отбор воздуха рабочей зоны водителя в зимний период на определение концентраций оксида углерода, диоксида азота и акролеина. Максимальные концентрации окиси углерода зимой в кабинах автобусов марки «НЕФАЗ» достигали $5 \pm 0,8$ мг/м³, диоксида азота – $1,0 \pm 0,2$ мг/м³, акролеина – $0,005$ мг/м³. Исследования, проведенные нами, показали, что не зафиксировано превышения ПДК указанных веществ в кабинах автобусов. Отмечено некоторое увеличение концентрации веществ в воздушной среде кабин автобусов, связанное с увеличением времени эксплуатации. Так, в автобусах 2008 года выпуска (г. в.) средняя концентрация оксида углерода составляла $1,67 \pm 0,28$ мг/м³, 2009 г. в. – $1,15 \pm 0,2$ мг/м³, 2010 г. в. – $0,95 \pm 0,16$ мг/м³. Даже сравнительно небольшие концентрации химических веществ, особенно в сочетании с дру-

гими факторами производственной среды, могут оказать отрицательное влияние на организм водителей и, следовательно, снизить безопасность движения.

Управленческие решения по снижению уровней профессиональных рисков здоровью водителей пассажирского автотранспорта должны содержать:

- конструкторские решения по улучшению показателей ведущих вредностей (эффективную вентиляцию и изоляцию кабины от источников загрязнения, снижение токсичности отработавших газов и эффективное удаление токсичных веществ из кабины автомобиля), снижение тяжести и напряженности трудового процесса (оптимизация режима труда и отдыха);

- осуществление комплекса гигиенических, градостроительных, организационных и других мероприятий по снижению загрязненности воздуха придорожной зоны как одного из основных источников токсичных веществ на рабочем месте водителей автомобилей;

- мероприятия по обеспечению технического состояния автобуса (ежедневный уход, осмотр, диагностика, совершенствование системы ремонта, технического обслуживания и контроля за техническим состоянием узлов и агрегатов автомобиля, влияющих на загрязнение кабины токсичными веществами);

- ужесточение требований предрейсовых, предварительных и периодических медицинских осмотров;

- организацию научных физиолого-гигиенических исследований по оптимизации режимов труда и отдыха в новых условиях работы предприятий общественного транспорта;

- предупреждение попадания токсичных веществ в кабину автомобиля из всех возможных источников;

- активное использование альтернативных, экологически более оправданных источников энергии для автотранспорта.

тельно возрос поток пассажирских перевозок на железнодорожном транспорте, изменились условия и характер труда проводников пассажирских вагонов, изменились требования к обслуживанию пассажиров, графики работ проводников, организация условий труда, питания и бытового обеспечения поездных бригад.

Профессия проводника обладает целым рядом своих специфических особенностей. Во-первых, ее можно отнести в разряд женских профессий (по данным последнего анкетирования, доля женщин в профессии составила 83 %). Во-вторых, труд проводников относится к категории «разъездных» профессий, причем большее число проводников заняты в длительных поездках, перемещаясь в течение 3 и более суток (до 7 суток). В таких условиях вагон классифицируется как временное жилище и особую актуальность приобретают вопросы качества среды и условий нахождения в нем людей. Основные вредные и неблагоприятные производственные факторы, присущие профессии проводника: вибрация, шум, запыленность, химические вещества, неблагоприятная микробиологическая атмосфера, тяжесть и напряженность трудового процесса и др.

В соответствии с этими условиями структура заболеваемости также имеет ряд отличий: у проводников пассажирских вагонов преобладают болезни органов дыхания, органов кровообращения, костно-мышечной системы, травмы и аллергические заболевания.

Высокая бактериальная загрязненность воздушной среды вагона, присутствие в воздухе различных химических соединений и неблагоприятный микроклимат приводят к частому развитию болезней дыхательной системы. Болезни органов дыхания у проводников достоверно чаще (на 12,5 %) являются причиной утраты профессиональной пригодности к труду по состоянию здоровья по сравнению с другими работниками железнодорожного транспорта, в основном за счет бронхиальной астмы и других рецидивирующих хронических заболеваний бронхально-легочной системы. Среди причин развития таких заболеваний можно выделить обслуживание проводниками водогрейных котлов системы отопления, являющихся источником летучей золы, пыли, оксидов азота и других веществ, наряду с поражением дыхательной системы способных приводить к расстройствам нервной системы, обладающих общетоксичными и канцерогенными свойствами.

В ограниченном объеме помещений вагона становится значимым миграция опасных компонентов из отделочных и экипировочных материалов вагона. Так, в последнее время увеличивается доля использования в отделке вагона материалов из поливинилхлорида (ПВХ), выделяющих за счет термодеструкции большое количество токсичных веществ. Загрязненный воздух внутри помещений из ПВХ может негативно влиять на нервную систему, создавать проблемы воспроизводства, приводить

УДК 613.6.02

Юдаева О. С., Толкнова Е. А.

СПЕЦИФИКА ТРУДА И ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПРОВОДНИКОВ ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ

ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены Роспотребнадзора, Москва

Одной из наиболее массовых профессий на железнодорожном транспорте является проводник пассажирского вагона. В последние годы значи-

к ослаблению иммунной системы, эндометриозу, астме, аллергии, раку и другим заболеваниям.

Влияние указанных факторов усугубляется повышенными уровнями шума и вибрации на рабочих местах проводников. Повышенный шумовой раздражитель негативно влияет на нервную систему человека, снижает его иммунитет и, следовательно, устойчивость ко всем вышеописанным раздражителям. Постоянный шум создает предпосылку для возникновения в коре головного мозга очагов стойкого возбуждения или торможения. Это ведет к снижению работоспособности, в первую очередь – умственной, так как уменьшается концентрация внимания, увеличивается число ошибок, развивается утомление. Такое состояние неблагоприятно отражается на сердечно-сосудистой системе: из-

меняется частота сердечных сокращений, повышается или понижается артериальное давление, повышается тонус и снижается кровонаполнение сосудов головного мозга. Повышенный шум может стать причиной бессонницы, быстрого утомления, агрессивности, влиять на репродуктивную функцию и способствовать серьезному расстройству психики.

Таким образом, развитие профессиональных заболеваний у проводников обусловлено работой в химически и биологически неблагоприятной среде на фоне ослабленного физическими факторами иммунитета, а значит, профилактика этих заболеваний должна носить комплексный характер и быть направлена на компенсацию всех перечисленных неблагоприятных факторов.

**VI. САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ
ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

УДК 613.5

Буржинский И. С.**О ПРОБЛЕМАХ УТИЛИЗАЦИИ
ОТХОДОВ В НОВОСИБИРСКОЙ
ОБЛАСТИ**

*Управление Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
по Новосибирской области,
Новосибирск*

В России основы обращения с отходами производства и потребления определяются Федеральным законом от 24.06.1998 № 89-ФЗ «Об отходах производства и потребления» и другими нормативными документами.

Указанный закон достаточно чётко сформулировал основные принципы политики государства в указанной области: предотвращение вредного воздействия отходов производства и потребления на здоровье человека и окружающую среду, а также вовлечение таких отходов в хозяйственный оборот в качестве дополнительных источников сырья.

Однако сказать, что эти принципы реализуются в полной мере, нельзя. Достаточно привести такие цифры: по экспертным оценкам, объём образования муниципальных отходов в России составляет 40 млн. т в год; в настоящее время примерно 90 %, или более 35 млн. т, мусора вывозится на свалки и полигоны; утилизируется не более 10 % ТБО, из которых около 3 % сжигается и 7 % поступает на промышленную переработку. В Новосибирской области образуется более 2 млн. м³ ТБО. В г. Москве только в жилом секторе ежегодно образуется более 12 млн. м³ ТБО.

Сегодня реализация государственной политики в сфере обращения с отходами затруднена по нескольким причинам:

- отходы V класса опасности исключены из сферы действия лицензирования;
- недостаточный контроль за исполнением законодательства в данной сфере лицензирующим органом, а именно: выдав лицензию, Росприроднадзор не несёт ответственности за надлежащее исполнение хозяйствующим субъектом условий осуществления деятельности в области обращения с отходами, а единственной мерой воздействия на хозяйствующий субъект является приостановление действия или отзыв лицензии;
- отсутствие реальной экономической ответственности хозяйствующих субъектов, занятых в сфере обращения с отходами производства и потребления, за ущерб, причинённый их деятельностью.

Сбор и удаление бытовых отходов в городах и населенных пунктах осуществляются спецавтотранспортом в сроки, предусмотренные санитарными правилами уборки населенных мест. Система сбора и удаления бытовых отходов включает [Кротков Ф. Г. Руководство по коммунальной гигиене. II том. М., 1962]:

- организацию временного хранения отходов в домовладениях;
- подготовку отходов к погрузке в собирающий мусоровозный транспорт;
- сбор и вывоз бытовых отходов с территорий домовладений и организаций;
- доставку и выгрузку в пунктах обезвреживания, утилизации или захоронения бытовых отходов.

На данных этапах контроль необходимо осуществлять взаимосвязанно жилищными организациями и предприятиями по санитарной очистке.

Исходными данными для планирования количества подлежащих удалению отходов являются нормы накопления бытовых отходов, определяемые для жилых домов, а также для объектов культурно-бытового назначения.

Одним из важнейших мероприятий в области обращения с отходами, в том числе ТБО, является раздельный сбор вторичного сырья, который позволяет добиться значительного сокращения объемов ТБО, что существенно снижает загрузку полигонов и мусороперерабатывающих заводов, уменьшает число стихийных свалок. Максимальный экономический и экологический эффект, связанный с извлечением утильных фракций и экономией природных ресурсов, реализуется на трех стадиях сбора и удаления ТБО [Мирный А. Н., 2011]:

- при селективном сборе ТБО в зоне торговых предприятий;
- при сборе вторсырья от населения на специально организованных пунктах;
- при механизированном обезвреживании и переработке остальной массы ТБО на мусороперерабатывающих предприятиях и полигонах ТБО.

Внедрение указанных мероприятий позволяет не только снизить ущерб, причиняемый окружающей среде отходами, но и получить ценное вторичное сырье промышленности.

Для сведения к минимуму негативного воздействия отходов на окружающую среду и повышение эффективности использования ресурсов необходимо применять системы комплексного управления отходами:

- предотвращение и сокращение объемов образования отходов;
- повторное использование и рециркуляция;
- экологически безопасные способы утилиза-

ции, включая технологии получения энергии и сырья из отходов.

Для решения проблемы вторичного использования отходов недостаточно сформировать правовые инструменты по проведению рециклинга продукции. Необходимо возложить ответственность за реализацию рециклинга на того, кто разрабатывает, изготавливает, перерабатывает или реализует изделие. Например, за переработку масляного фильтра для автомобиля или пластиковой бутылки (ПЭТФ-тары) должен платить производитель. Тогда система сбора и индустрия переработки организуется быстро и работает эффективно [Пупырев Е. И., 2007].

В Новосибирской области в 2013 г. произошло снижение количества объектов, отнесенных к III группе санитарно-эпидемиологического благополучия, в том числе и полигонов твердых бытовых отходов, усовершенствованных свалок. По сведениям Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новосибирской области, утилизация твердых бытовых отходов в Новосибирской области предусмотрена на 548 полигонах для твердых бытовых отходов, усовершенствованных свалках, хотя в 2012 г. их было 631.

Имеются также другие проблемы.

Первая проблема.

Существующие полигоны не обеспечивают потребностей города и близлежащих окрестностей по складированию мусора, так как имеют остаточные ресурсы накопления от 2 до 5 лет.

Причины: нарушение технологии захоронения отходов; отсутствие мусороперерабатывающих комплексов; отсутствие эффективной инвестиционной политики в сфере обращения с отходами.

Вторая проблема.

Существующая система сбора и вывоза ТБО не позволяет в полной мере отслеживать прохождение отходов от места сбора до места захоронения или утилизации.

Причины: неупорядоченный, неконтролируемый вывоз твердых бытовых отходов приводит к возникновению огромного количества несанкционированных свалок и микросвалок.

Третья проблема.

Захламленность земель вокруг населенных пунктов и вдоль дорог местного и областного значения.

Причины: отсутствие оборудованных мест накопления и временного хранения ТБО; нехватка специализированного транспорта предприятий ЖКХ муниципальных образований района; отсутствие экономической заинтересованности компаний в предоставлении этой услуги из-за высоких транспортных расходов.

Для улучшения санитарного состояния населенных мест, в том числе связанного с обращением отходов производства и потребления, необходимо:

- Формирование (создание) нормативно-правовой базы регионального и местных уровней, распределяющей функции в сфере сбора, транс-

портировки и утилизации ТБО и закрепляющей ответственность между участниками процесса обращения с отходами производства и потребления.

- Продолжение введения отдельного сбора ТБО. Нужно создать такие условия, чтобы человек не допускал мысли, что можно просто взять и бросить мусор на землю. Чтобы он знал, что макулатуру можно сдать в одно предприятие, стеклотару в другое и т.д. На каждом углу, возле каждой скамейки должны стоять урны для мусора.

- Снижение нагрузки на действующие полигоны ТБО и переход от захоронения ТБО к переработке и повторному использованию отходов, а для этого необходимо создание мусоросортировочных и мусороперерабатывающих заводов.

- Проведение комплекса мероприятий по ликвидации и рекультивации несанкционированных свалок.

В Управление Роспотребнадзора по Новосибирской области в 2013 г. поступило 117 обращений о содержании территорий городских и сельских поселений, промышленных площадок, 64 обращения о сборе, использовании, обезвреживании, транспортировке, хранении и захоронении отходов производства и потребления. Все обращения рассмотрены в установленные сроки.

По вопросам организации системы планово-регулярной очистки населенных мест и обращению отходов производства и потребления в 2013 г. проведено 117 проверок, в том числе: совместные проверки по требованию прокуратуры Новосибирской области, прокуратуры районов области, Новосибирской межрайонной природоохранной прокуратуры.

За нарушение требований к очистке населенных мест и обращению с отходами производства и потребления Управлением Роспотребнадзора по Новосибирской области в 2013 г. выдано 42 предписания об устранении выявленных нарушений, рассмотрено 52 дела об административном правонарушении. Сумма штрафов составила более 500 000 рублей.

Подытоживая вышеизложенное, можно сделать следующие выводы.

Проблема обращения с твердыми бытовыми отходами приобрела довольно острый характер, а ее эффективное решение становится решающим фактором социальной стабильности и экологически устойчивого развития общества. В то же время рациональное управление отходами нужно рассматривать как безальтернативный вариант разрешения противоречия между возрастающими потребностями общества и ограниченными возможностями природы. В современных условиях главным стратегическим направлением решения проблемы является совершенствование муниципальных систем управления отходами, связанное с созданием условий для снижения потоков захораниваемых ТБО (за счет вовлечения их в переработку и утилизацию) и минимизацию экологической опасности на всех этапах обращения с отходами.

УДК: 616.9:616.004.2:614.48:621

Головин С. Н., Веркина Л. М.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОТХОДОВ КЛАССА В*ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону*

В настоящее время метод обработки медицинских отходов в установках, использующих СВЧ-излучение, достаточно распространен, эффективность его в отношении отходов класса Б доказана рядом исследований. Лабораторным советом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека разработаны Методические рекомендации «Использование электромагнитного излучения сверхвысокой частоты для обеззараживания инфицированных медицинских отходов», утверждённые ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» 06.05.2006 г., № 02.007.06. В документе определён порядок работы установки и приведены режимы обеззараживания различных видов медицинских отходов и клинического материала. Однако данных об опыте применения таких установок для обработки отходов класса В и их эффективности в отношении отходов, контаминированных возбудителями особо опасных инфекций (ООИ), недостаточно.

Также не исследовано действие СВЧ-излучения на отходы, образующиеся после использования биопробных животных, заражённых ООИ.

Цель работы: определение эффективности метода СВЧ-обработки в отношении абиотических отходов класса В, инфицированных ООИ, и при обеззараживании биопробных животных.

Опыты по определению эффективности дезинфекции СВЧ-излучением проводили в установке УОМО-01/150 «О-ЦНТ» в соответствии с руководством по эксплуатации.

В качестве тестовой культуры использовали штамм *Francisella tularensis* 503. Это связано с высокой восприимчивостью к данному возбудителю биопробных животных (белых мышей), и, как следствие, более высокими критическими параметрами оценки эффективности стерилизации.

Обработке подвергались следующие типы отходов: чашки с агаровой культурой, флаконы с бульонной культурой и павшие биопробные животные. Обеззараживаемая масса абиотических и биотических объектов была существенно неоднородна с точки зрения их способности поглощать энергию микроволновых колебаний и вследствие этого одновременно достигать необходимой температуры для процесса деконтаминации. Разнородность отходов также повышала критерии оценки эффективности стерилизации.

После обработки отходов в установке УОМО-01/150 «О-ЦНТ» в течение 60 минут при мощности 1200 Вт производили прямые посевы из образцов и смывы из исследуемого материала на отечественные коммерческие жидкие и твёрдые питательные среды, а также заражали белых мышей.

Посевы на наличие роста *Francisella tularensis* наблюдали в течение 3 сут, за биопробными животными наблюдали в течение 21 сут.

Характерного роста в посевах и гибели биопробных животных не наблюдалось.

Таким образом, в результате проведенного исследования доказана эффективность применения СВЧ-излучения для обеззараживания отходов, контаминированных возбудителями ООИ.

УДК 616.715

Заводова Е. И.

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ САРАНСКА РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Мордовия», Саранск*

Обострение экологических проблем характерно для всех высокоразвитых стран, промышленных регионов и городов. Проблема безопасного состояния окружающей среды по своей значимости и актуальности является приоритетной. За счет антропогенных факторов наблюдается ухудшение эколого-гигиенической обстановки, наносящей ущерб среде обитания и здоровью населения.

Для разработки мероприятий по охране здоровья населения определенное значение имеет оценка связи загрязнения окружающей среды со структурой заболеваемости и смертности населения. Изучение ее позволяет строить прогноз экономических последствий и здоровья населения. Актуальность подобных исследований возрастает на фоне ухудшения медико-демографических показателей населения города Саранска, где сохраняется тенденция превышения числа умерших над родившимися (в 2013 г. – на 6,8%), что обуславливает естественную убыль населения. Необходим поиск причин, влияющих на экологию, для разработки мер по улучшению среды обитания и укреплению здоровья населения.

Саранск – город с развитой промышленной инфраструктурой, где с прежних времен в центральной селитебной застройке оказались размещенными предприятия всех классов опасности: производ-

ство электротехнической промышленности, в том числе – ртутных источников света, производство антибиотиков, предприятия приборостроения, производство строительных материалов.

Целью настоящего исследования является: комплексная гигиеническая оценка состояния здоровья населения и факторов среды обитания, разработка мер по снижению степени воздействия неблагоприятных факторов риска, обусловленных средой обитания, и мер по укреплению здоровья населения.

Материалы и методы. Использованы материалы изучения качества воды, почвы за 2009–2013 гг., по данным социально-гигиенического мониторинга ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Мордовия» и качества атмосферного воздуха, по данным ФГБУ «Мордовский ЦГМС». Показатели здоровья населения взяты из статистических материалов министерства здравоохранения республики. Для проведения корреляционных зависимостей использовалась программа «Статистика 6,1».

Результаты и обсуждение.

В питьевой воде Саранска в связи с природными особенностями региона наблюдается отсутствие йода и селена, но повышенное содержание сухого остатка – до 1,5 ПДК, фторидов – до 1,5–1,6 ПДК, бора – до 2 ПДК и железа – до 5 ПДК.

Ухудшение качества воды по таким показателям, как общая жесткость, мутность, повышенное содержание железа, приводит к изменению вкусовых свойств воды, может явиться одним из факторов развития мочекаменной болезни. Например, заболеваемость мочекаменной болезнью по городу на треть превышает республиканскую.

При определении корреляционной зависимости между заболеваемостью населения Саранска мочекаменной болезнью и качеством питьевой воды установлены умеренные степени зависимости с общей жесткостью (+0,51), содержанием сухого остатка (+0,57), нитратов (+0,65) и сульфатов (0,65). В данном случае исключение влияния водного фактора на заболеваемость мочекаменной болезнью невозможно.

Уровень загрязнения атмосферного воздуха в течение многих лет определяется как высокий, со значением ИЗА (индекс загрязнения атмосферы) 10,0, который рассчитывается по пяти приоритетным веществам (формальдегид, бенз(а)пирен, диоксид азота, оксид углерода, взвешенные вещества). За последние пять лет наметилась тенденция к увеличению уровня загрязнения воздуха формальдегидом (+42,9 %), диоксидом серы (+33,3 %), оксидом углерода (15,4 %) и снижению уровня бенз(а)пирена с 3,5 ПДК до 1,9 ПДК. Содержание ртути обычно ниже ПДК.

Суммарные выбросы вредных веществ в атмосферный воздух от стационарных и передвижных источников составили 115,1 тыс. т, в том числе от стационарных – 49,9 тыс. т, или 43,4 %, от автотранспорта – 65,2 тыс. т, или 56,6 %. Основные

выбросы от стационарных источников составили: оксид углерода – 5,9 тыс. т (5,1% от суммарных выбросов); оксид азота – 6,9 тыс. т (6 %); углеводороды – 30,9 тыс. т (26,8 %); летучие органические вещества – 1,8 тыс. т (1,6 %).

Перечисленные поллютанты могут оказывать влияние на здоровье населения города, что подтверждается результатами ранее проведенных исследований по определению корреляционных связей между вредными веществами в атмосфере и злокачественными новообразованиями. Формальдегид показал прямую связь с опухолями кожи (+0,69–0,71), легких (+0,50–0,69), почек (+0,69) и мозга (+0,54); у мужчин с лейкозами – для хрома, марганца и ванадия (+0,53), с саркомами кости – кадмий (+0,56) и диоксид азота (+0,67); у женщин с опухолями молочной железы прямая корреляционная связь с оксидом азота (+0,80), кадмием и свинцом, при $p < 0,05$. Кроме того, оксиды азота и серы, формальдегид, хром обладают раздражающим и аллергенным действием, повышают восприимчивость человека к действию агентов химической микробиологической природы, модифицируют течение многих заболеваний.

Контроль за качеством почвы осуществлялся по следующим веществам и соединениям: бенз(а)пирен, свинец, кадмий, цинк, медь, никель, мышьяк, ртуть. По результатам исследований содержание солей тяжелых металлов в пробах почвы не превышало предельно допустимую концентрацию, за исключением без(а)пирена – от 1,4 до 2 ПДК.

По данным мониторинга шумовой нагрузки, в жилой зоне города регистрировались превышения эквивалентных уровней от 2–6 дБА до 5–6 дБА.

За последние 10 лет (с 2004 г.) произошел рост показателей общей первичной заболеваемости на 13,2%. При этом население Саранска имеет достоверно более высокий уровень (более чем в 2 раза) первичной заболеваемости по сравнению с остальными районами. Причинами этого могут быть высокая концентрация промышленных предприятий и автомобильного транспорта, следствием которой являются химическая и шумовая загрязненность, высокая плотность населения на единицу территории. Более высокий уровень доступности медицинской помощи в городе также обуславливает высокий (в сравнении с районами) уровень выявляемости заболеваний.

За период 2004–2013 гг. регистрировался рост числа вновь заболевших по основным классам групп заболеваний, которые формируют качество здоровья населения. Показатель первичной заболеваемости увеличился с 909,8 в 2004 г. до 1029,8 в 2013 г. (на 1000 чел.). Темп прироста показателей заболеваемости болезнями органов дыхания составил 40,7 %, болезнями системы кровообращения 38,4 %, мочеполовой системы – 31,2 %, болезнями глаза – 5,2%. В 2013 г. было выявлено превышение средних показателей по республике заболеваемости населения язвенной болезнью желудка на 33,3%, ожирением – на 6,2%, гипертонической

болезнью – на 41,3%, мочекаменной болезнью – на 13,3%.

Болезни органов дыхания по республике преобладают примерно на 40 % во всех возрастных контингентах. Среднемноголетний показатель первичной заболеваемости в Саранске за 10 лет был выше республиканского на 39,1 %. Положительная тенденция за 10 лет обнаружилась снижением заболеваемости болезнями крови на 29,6 %, болезней кожи – на 3 %, болезней эндокринной системы – 6,4 %.

Прослеживается тенденция к увеличению первичной заболеваемости детского населения. В 2004 году показатель заболеваемости детей был на уровне 2369,9 на 1000 детей, а к 2013 году составил 3394,1. Темп прироста составил 43,2 %. Первичная заболеваемость детского населения в 2013 году превышала среднереспубликанские показатели на 65,7 %.

В структуре первичной заболеваемости детей города Саранска ведущие ранговые места занимали болезни органов дыхания, инфекционные болезни, болезни органов пищеварения, кожи и подкожной клетчатки. Более половины всей патологии составляли болезни органов дыхания. Например, в 2013 г. показатель заболеваемости болезнями органов дыхания детского населения составил 2187 на 1000 детей и превышал среднереспубликанский на 69,4 %. Темп прироста за 10 лет – 70,7 %.

Уровень детской заболеваемости бронхиальной астмой за десятилетний период увеличился на 52,2 %.

Показатели болезней глаза среди детского населения за анализируемый период выросли до 42,7 %. Отмечен рост по новообразованиям на 53,3 %. Уровень заболеваемости болезнями кожи и подкожной клетчатки в 2013 г. был 105,3 на 1000 детей. Это выше среднего по республике на 43,8 %. Обнаружена благоприятная тенденция – снижение показателей заболеваемости детей в Саранске болезнями эндокринной системы на 46,7 %, болезнями крови – на 33,8 %.

Среднемноголетний показатель общей заболеваемости подростков по Саранску за 10 лет выше на 46,2 %, чем в среднем по республике. Отмечается отрицательная динамика за период 2004–2013 гг. – темп прироста составил 41,6 %.

С целью улучшения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Саранска проводились работы по строительству объездных дорог для большегрузного транспорта, автомобильных развязок. Проводилась санитарно-гигиеническая паспортизация производств, применяющих или производящих канцерогеноопасные вещества и продукты, позволяющая оценить степень реальной опасности для населения, работников, определить контингенты работников, подвергающихся воздействию канцерогеноопасных агентов, разработать конкретные мероприятия по профилактике онкологических заболеваний.

Наряду с принятием мер по улучшению сани-

тарно-технического состояния централизованных систем водоснабжения необходимы научная разработка и практическая реализация новых направлений в обеспечении населения доброкачественной питьевой водой. К ним относится доочистка водопроводной воды в местах ее непосредственного потребления с использованием специальной техники и оборудования, а также бесперебойная поставка потребителям высококачественной воды, расфасованной в емкости.

Мы считаем, что снижение заболеваемости населения Саранска возможно только при условии комплексного решения проблем, связанных с охраной здоровья, питанием, образом жизни, а также здравоохранительной политикой.

УДК 615.4:658.567.1

Зудинова Е. А.

АНАЛИЗ ОБЪЕМОВ НАКОПЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ В МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЯХ ГОСУДАРСТВЕННОЙ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВА

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

В Москве ежегодно образуется около 100 тыс. тонн медицинских отходов с тенденцией к интенсивному росту. Большая часть отходов медицинских организаций (от 75 % до 85 %) не представляет опасности, может быть отнесена к ТБО и утилизироваться вместе с ними. В то же время существенная часть отходов (от 15 % до 25 %), опасных в эпидемиологическом отношении, требует особого внимания, так как представляет реальную опасность как для медицинского персонала, пациентов, так и для окружающей среды.

В последнее десятилетие в медицинских организациях государственной системы здравоохранения Департамента здравоохранения г. Москва внедряются современные методы обеззараживания отходов, предусматривающие переход от химической дезинфекции отходов, опасных в эпидемиологическом отношении, к аппаратным способам обеззараживания, использующим преимущественно физические методы воздействия, такие как:

- обработка насыщенным паром под избыточным давлением (автоклавирование);
- обработка влажным жаром (протеиновый лизис);
- сверхчастотная микроволновая система обеззараживания медицинских отходов.

В период с 2006 г. по настоящее время в медицинских организациях государственной системы здравоохранения г. Москва создано и оснащено специализированным оборудованием более 150 участков обеззараживания медицинских отходов (УОМО). В 2013 г. по заказу Департамента здравоохранения г. Москва проведен мониторинг функционирования УОМО в 123 медицинских организациях.

В мониторинге функционирующих участков принимали участие 45 стационаров (42 %) и 61 учреждение амбулаторно-поликлинического профиля (58 %) подчинения Департамента здравоохранения г. Москва, расположенные в ЮВАО, ЮАО, ЦАО, САО, ВАО, СЗАО, ЗАО, г. Зеленограде, г. Москва и на территории Московской области. Кроме того, в мониторинге принимала участие специализированная служба Департамента здравоохранения г. Москва ГБУЗ «Городская станция переливания крови ДЗМ».

По профилю стационары были разделены следующим образом: 17 (36,3 %) соматических стационаров для взрослых, 7 (15,9 %) детских больниц, 8 (18,1 %) туберкулезных больниц и противотуберкулезных диспансеров, имеющих в своем составе стационар, 3 (6,8 %) инфекционные клинические больницы, 4 (3,7 %) родильных дома, 4 (3,7 %) психиатрических/наркологических стационара, 1 (0,9 %) онкологическая больница, 1 (0,9 %) хоспис.

Организации, оказывающие амбулаторную помощь, состояли из следующей группы: 21 (34,4 %) взрослая поликлиника, 20 (32,7 %) детских поликлиник, 6 (9,8 %) стоматологических поликлиник для взрослого населения, 3 (4,9 %) детские стоматологические поликлиники, 2 (3,2 %) консультативно-диагностических центра, 3 (4,9 %) кожно-венерологических диспансера, 2 (3,2 %) психоневрологических диспансера, 1 (1,6 %) противотуберкулезный диспансер, 1 (1,6 %) онкологический диспансер, 1 (1,6 %) наркологический диспансер.

Парк специализированного автоматизированного оборудования для обеззараживания медицинских отходов в 106 медицинских организациях представлен 119 единицами оборудования (в остальных 17 медицинских организациях в настоящее время осуществляется процесс сдачи в эксплуатацию УОМО). Все оборудование по обеззараживанию медицинских отходов было установлено в соответствии с профилем и фактической мощностью (кочным фондом или посещаемостью пациентами) лечебного учреждения.

Анализ показал, что количество отходов в мониторируемых медицинских организациях Департамента здравоохранения г. Москва с каждым годом возрастает: 2009 г. – 22 989 747,85 кг, 2010 г. – 23 179 449,97 кг, 2011 г. – 23 246 434,42 кг, 2012 г. – 28 438 422,74 кг. За период 2008–2012 гг. рост медицинских отходов всех классов опасности составил 23,7 %. Динамика увеличения объема образующихся отходов в зависимости от профиля и

кочного фонда медицинской организации варьирует от +0,3 % до +35 %.

Увеличение из года в год образующихся объемов всех классов отходов в г. Москва обусловлено, в первую очередь, активным проведением мероприятий по реорганизации государственной системы здравоохранения, в частности оптимизацией лечебно-диагностического процесса на всех уровнях, улучшением условий труда медицинского персонала, пересмотром подходов к обеспечению экологического благополучия мегаполиса.

Проведение строительных и ремонтных работ, переоборудования и переоснащения медицинских организаций в рамках проводимой модернизации городской системы здравоохранения г. Москва напрямую связано с увеличением отходов класса А (значительный прирост отходов класса А отмечен в 2012 году, который составил 23,9 % по сравнению с 2011 г.).

Прирост отходов класса Б в исследуемый период составил +6,8 % в 2010 г. (по сравнению с 2009 г.), + 18,3 % в 2011 г. (по сравнению с 2010 г.), +13,9 % в 2012 г. (по сравнению с 2011 г.). Рост отходов класса Б непосредственно обусловили изменения в оказании лечебно-диагностической помощи населению в результате введения новых стандартов по оказанию медицинской помощи, резкое увеличение доли медицинского инструментария и изделий медицинского назначения однократного применения, рост оперативной активности, инвазивных методов диагностики и пр. в медицинских организациях государственной системы здравоохранения г. Москва как результата модернизации системы столичного здравоохранения в связи с переходом к высокотехнологичным методам оказания помощи населению.

При этом, как следует из результатов мониторинга, увеличение количества отходов класса Б в учреждениях стационарного профиля составило 48,3 % (2009 г. – 1 058 812 кг, 2012 г. – 1 570 432 кг), в медицинских организациях амбулаторно-поликлинического профиля – 35,4 % (2009 г. – 291277,5 кг, 2012 г. – 394530,6 кг).

Наблюдающийся рост объемов образования отходов в стационарах обусловлен также увеличением оперативной активности в больницах и учреждениях для оказания первичной медико-санитарной помощи. По данным Департамента здравоохранения г. Москвы, оперативных вмешательств проведено в стационарах в 2010 году – 568656; в 2011 году – 611940; в 2012 году – 620478; в учреждениях для оказания первичной медико-санитарной помощи – 2010 г. – 312378 операций, 2011 г. – 328181 операций; 2012 г. – 330243 операций.

В учреждениях родовспоможения увеличение объемов отходов напрямую связано с продолжающимся ростом рождаемости в г. Москве, что подтверждают данные мониторинга по четырем родильным домам.

В учреждениях для оказания первичной

медико-санитарной помощи в рамках проведения модернизации системы городского здравоохранения открылись дневные стационары, центры здоровья, также увеличилось количество проведенных инвазивных вмешательств, операций и манипуляций в работе специалистов хирургического профиля поликлиник, что привело к росту количества образующихся медицинских отходов.

На городской станции переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы увеличение отходов напрямую связано с ростом проведенных дотаций, численности доноров, связанных с реорганизацией донорства в РФ.

В мониторинге принимали участие медицинские организации, в которых образуются также медицинские отходы класса В. Данные организации также показали в своих отчетах рост отходов класса В (чрезвычайно эпидемиологически опасных) на 37,2 % за исследуемый период.

Таким образом, по данным мониторинга медицинских организаций государственной системы здравоохранения г. Москвы, проведенного в 2013 году, наблюдалось существенное увеличение объемов медицинских отходов – до 35 %. В среднем эта величина составляла от 12 до 17,5 % общего объема образующихся отходов.

При этом большой прирост отмечен в медицинских организациях стационарного типа, что непосредственно обусловлено мероприятиями по реорганизации и модернизации системы оказания медицинской помощи в г. Москва в рамках программы «Столичное здравоохранение».

В условиях такого стремительного роста объемов опасных в эпидемиологическом отношении отходов переход медицинских организаций на применение аппаратных способов обеззараживания является методом выбора, так как позволяет превратить отходы классов Б и В в практически безопасные, которые допускаются транспортировать к местам их конечного обезвреживания (на полигоны, мусоросжигательные заводы) в составе ТБО (отходов класса А). Создание различных видов УОМО (децентрализованных, централизованных) и переход на аппаратные методы обеззараживания медицинских отходов классов Б и В позволяет существенно влиять на улучшение эпидемиологической ситуации в мегаполисе.

УДК 615.9:544:59

**Кацнельсон Б. А., Привалова Л. И.,
Сутункова М. П., Гурвич В. Б.,
Кузьмин С. В., Логинова Н. В.,
Минигалиева И. А., Киреева Е. П.**

НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ МЕТАЛЛОСодержащих НАНОЧАСТИЦ

*ФБУН «Екатеринбургский медицинский
научный центр профилактики и охраны
здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора,
Екатеринбург*

Работа осуществлена в творческом сотрудничестве с ЦКП «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, Уральским государственным экономическим университетом, Уральским государственным медицинским университетом, Городским клинико-диагностическим центром.

Наночастицы (НЧ) металлов и их оксидов представляют особый интерес в свете оценки рисков для здоровья потому, что помимо искусственных (engineered) НЧ с заданными свойствами для применения в науке, технике и медицине, существенная «ультратонкая» фракция частиц нанометрового диапазона обычно обнаруживается в составе аэрозолей конденсации, образующихся при электросварочных и пирометаллургических технологических процессах, наряду с химически аналогичными микрометровыми частицами (МЧ).

Поэтому для металлических НЧ повседневная практика настоятельно требует экспериментально подтвержденных ответов на некоторые принципиальные вопросы нанотоксикологии: (1) Распознаются ли НЧ важнейшими физиологическими защитными механизмами, как нередко утверждается, хуже, чем соответствующие МЧ? (2) Действительно ли НЧ, как полагает большинство исследователей, намного токсичнее, чем соответствующие МЧ? (3) В какой мере ответы на первые 2 вопроса зависят от размера частиц в пределах условного нанодиапазона и/или от химической природы НЧ?

Наши экспериментальные исследования проводились со специально приготовленными и строго охарактеризованными НЧ магнетита (Fe_3O_4), имеющими средний диаметр 10 или 50 нм, золота (прибл. 4 или 50 нм), серебра (прибл. 4 или 50 нм) и оксида меди (прибл. 20 нм), в сравнении с МЧ тех же металлов. Металлы имели чистоту 99,99 %, суспензии готовились на деионизированной воде, без химических добавок.

Клеточная популяция жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) у крыс

через 24 часа после интратрахеального введения малых доз НЧ или МЧ, исследовалась с помощью оптической, атомно-силовой и электронной микроскопии. Субхроническая интоксикация моделировалась повторными внутрибронхиальными введениями тех же суспензий крысам на протяжении 5–7 недель и оценивалась с помощью большого числа функциональных, биохимических, генотоксических и морфометрических показателей, наряду с определением накопления частиц в основных органах-мишенях.

Результаты исследований свидетельствуют о следующем:

1. При равной массовой дозе и идентичном химическом составе НЧ вызывают значительно более интенсивную мобилизацию фагоцитирующих клеток на свободную поверхность глубоких дыхательных путей, чем МЧ, при более значительном увеличении численного отношения нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) к альвеолярным макрофагам (АМ), которое служит косвенным, но высокоинформативным показателем цитотоксичности частиц. Судя по этому показателю, цитотоксичность нарастает со снижением размера и в пределах нано-диапазона. Она зависит также от химической природы НЧ (например, НЧ серебра значительно цитотоксичнее, чем НЧ золота), что подтверждается ультраструктурными изменениями клетки.

2. Поглощение НЧ фагоцитами значительно более активно, чем поглощение МЧ, и тем активнее, чем мельче НЧ, причём все использованные микроскопические методы демонстрируют одинаковый характер внутриклеточной локализации НЧ в АМ и в НЛ, но он существенно зависит от химической природы частиц.

3. Все испытанные НЧ обладают также более высокой системной токсичностью, чем соответствующие МЧ, но в пределах нано-диапазона зависимость между токсичностью и размером частицы неоднозначно, что связано со сложными механизмами токсикокинетики НЧ, в силу которых в органах, богатых клетками РЭС, относительно крупные НЧ могут накапливаться в большей массе, чем мелкие НЧ. Для равноразмерных НЧ разных металлов органно-системная токсичность, как и генотоксичность, зависит от химической природы. В частности, было показано, что НЧ серебра повреждают ДНК значительно сильнее, чем НЧ золота.

4. Высокая эффективность ключевого механизма лёгочного клиренса свидетельствует о том, что безопасные уровни содержания НЧ в воздухе возможны, однако ввиду более высокой токсичности НЧ по сравнению с МЧ нормативы ПДК, установленные для МЧ, должны быть для соответствующих НЧ снижены не менее, чем на порядок величин. Это требует разработки надёжной и достаточно простой методики раздельного определения массовых концентраций НЧ и МЧ при одновременном присутствии их в воздухе рабочей зоны.

УДК: 579.843.1:579.26:614.48:547.262

**Кирилова О. Д., Титова С. В.,
Селянская Н. А., Веркина Л. М.**

ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛОВОГО СПИРТА НА БИОПЛЕНКИ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ

*ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону*

Образование биопленок микроорганизмами представляет собой одну из основных проблем в области медицины. В природных условиях биопленки могут служить резервуаром, концентрирующим патогенные микроорганизмы, которые приобретают устойчивость к различным неблагоприятным воздействиям, включая антибиотики, и трудно поддаются дезинфекционным процессам (Ю. А. Николаев, В. К. Плакунов, 2007). Это касается и способности холерных вибрионов образовывать биопленки, что может приводить к неэффективности режимов санации и дезинфекции (О. А. Татаренко и др., 2012; Ю. В. Сизова и др., 2012). Важной задачей является поиск веществ, которые могут подавлять образование биопленок холерных вибрионов. В связи с этим мы считаем целесообразным проведение сравнительного исследования активности дезинфектантов в отношении клеток возбудителя холеры, находящихся в форме суспензии (планктон), а также в составе биопленок.

Так, спиртосодержащие дезинфицирующие средства используются в качестве кожных антисептиков, а также для обработки наружных поверхностей против широкого ряда микроорганизмов. Они характеризуются быстрым воздействием, отсутствием остаточного химического эффекта, низкой токсичностью и являются экологически безопасными (S. S. Block, 2001). Дезинфицирующее действие этилового спирта основано на денатурации структурных и ферментных белков микробных клеток, грибов и вирусов и объясняется способностью вызывать торможение производства метаболитов, необходимых для быстрого деления клеток.

Цель исследования: экспериментальная сравнительная оценка биоцидной активности различных концентраций этилового спирта в отношении клеток холерных вибрионов, находящихся в форме суспензии (планктон) и в составе биопленок.

Материалы и методы: в работе использовали ctx^+ и ctx^- штаммы *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп. В качестве дезинфектанта применяли этиловый спирт (этанол) в концентрациях от 1 % до 70 % и экспозиции от 15 до 120 мин.

Холерные вибрионы культивировали в кипяченой водопроводной воде, во флаконах на пласти-

ковых пластинах для получения биопленок в течение суток при температуре 37 °С. В каждый флакон вносили суточную суспензию холерных вибрионов в конечной концентрации $n \times 10^4$ м.кл./мл по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л. А. Тарасевича (ОСО-42-25-59-86 П). Затем планктон и биопленки, содержащие холерные вибрионы, переносили во флаконы с этиловым спиртом различной концентрации и выдерживали от 15 до 120 мин при комнатной температуре. Жизнеспособность планктонной и биопленочной форм учитывали по наличию роста на пластинках с агаром Мартена.

В результате проведенных исследований было установлено, что санирующий эффект этанола в концентрации 1–10 % и при экспозиции 15–120 минут оказался недостаточным в отношении планктонной и биопленочной форм исследуемых штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы. При увеличении времени экспозиции воздействия 10 % этанола до 120 мин жизнеспособность биопленок холерных вибрионов O139 серогруппы сохранилась, но рост вибрионов из планктона отсутствовал.

При воздействии этилового спирта в концентрации 20 % в течение 15–60 мин наблюдалось подавление роста планктона, в то время как биопленки не нарушались. Однако часть атоксигенных штаммов O1 серогруппы, выделенных из водоемов, проявляла устойчивость к воздействию этанола, т. е. отсутствие роста планктонной формы наблюдали только при 30 мин экспозиции. При этом жизнеспособность биопленки, сформированной указанными штаммами, сохранялась. В результате воздействия этанола в течение 90–120 мин наблюдали отсутствие роста холерных вибрионов как в планктонной, так и в биопленочной формах.

Этиловый спирт в концентрации 40–70 % обладал санирующим эффектом как в отношении планктонной формы изученных штаммов, так и в отношении биопленок при всех исследованных режимах дезинфекции.

Таким образом, установлено, что биопленочные формы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп были более устойчивы к воздействию дезинфектанта – этанола. Определены оптимальные концентрации и экспозиция, обеспечивающие санирующий эффект как в отношении планктонной, так и биопленочной форм взятых в исследование штаммов *V. cholerae*.

УДК 614.38

Юдаева О. С., Толокнова Е. А.

РАЗРАБОТКА САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ТРЕБОВАНИЙ К СОВРЕМЕННЫМ ПОЛИМЕРНЫМ ПОКРЫТИЯМ И ИЗДЕЛИЯМ ДЛЯ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНЫХ ВОКЗАЛОВ И ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ

ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены Роспотребнадзора, Москва

Эксплуатация помещений с большой проходимостью пассажиропотока на железнодорожных вокзалах требует строгого соблюдения санитарно-гигиенических норм. При этом необходимо минимизировать эксплуатационные расходы и обеспечить антивандальность конструкций.

Идеальное решение проблемы – применение облицовочных материалов и отделочных конструкций, кабин и перегородок, элементов мебели, выполненных из биоцидного бумажно-слоистого пластика.

Конструкции из биоцидного пластика имеют неоспоримые преимущества:

- антивандальность и долговечность. Не требуется периодической реконструкции или ремонта, минимальный срок их эксплуатации – 12 лет. За счет высокой плотности и биоцидной отделки материал не впитывает запаха и загрязнений, легко очищается, не подвержен влиянию коррозии;

- полная влагостойкость и стойкость к моющим и дезинфицирующим средствам. Изделия из пластика можно мыть горячей водой из шланга с использованием любых химических моющих и дезинфицирующих средств;

- гигиеничность. Поверхностный слой пластика за счет введенных биоцидных добавок препятствует распространению и размножению опасных микроорганизмов;

- эстетичный внешний вид и отличные эргономические показатели, поскольку каждая конструкция проектируется индивидуально.

При этом полимерные материалы, используемые во внутреннем оборудовании пассажирских вагонов, а также при строительстве транспортных объектов должны соответствовать требованиям санитарно-гигиенической, экологической и пожарной безопасности. Такие материалы должны иметь свидетельство о сохранении биоцидных свойств на весь период эксплуатации.

Специалистами ФГУП ВНИИЖГ Роспотребнадзора совместно с Институтом химии растворов РАН в течение 5 лет проводились работы по созданию биоцидных добавок для различных ма-

териалов – поливинилхлорида, эластичного ППУ, стеклопластиков, бумажно-слоистых пластиков и текстильных материалов.

В результате проведенных работ в 2010 г. был разработан и запатентован антимикробный бумажно-слоистый пластик, не подверженный воздействию микроорганизмов, не являющийся источником загрязнения среды транспортных объектов, не оказывающий вредного воздействия на человека. Запатентованный способ изготовления биоцидного пластика позволяет выпускать пластик, обладающий стабильным антибактериальным эффектом на протяжении всего срока эксплуатации изделия. Сложный биоцидный состав, зашитый в структуру пластика, уничтожает болезнетворные микроорганизмы (бактерии, вирусы, паразитические грибки), гарантируя стойкий антибактериальный эффект, широкий спектр применения, безопасность использования, а также предохраняет саму структуру пластика от биоповреждений, увеличивая тем самым срок его службы.

Мебель и облицовочные панели обладают высокой прочностью и долговечностью, подтвержденный срок эксплуатации изделий – 40 лет. Изделия за счет применения пластика с декоративной поверхностью (от монохромных цветов до имитации дерева и камня) имеют великолепный внешний вид и отличаются хорошими эргономическими характеристиками. Каждое изделие проектируется индивидуально, с учетом геометрии салона и стиля его оформления. Продукция полностью соответствует требованиям пожарной безопасности, санитарным правилам и нормам по организации

пассажирских перевозок на железнодорожном транспорте. Бумажно-слоистые пластики на основе терморезистивных формальдегидных смол являются более стойкими к микробным повреждениям, чем материалы, содержащие природные высокомолекулярные соединения.

При проведении исследований был разработан ряд эффективных способов для снижения токсичности пластиков:

1. Введение в пропиточную смолу малотоксичных и малолетучих веществ, активных мономеров, встраивающихся в структуру материала и повышающих биоцидные свойства высокомолекулярного соединения.

2. Применение химически чистых компонентов, свободных от примесей.

3. Введение в пропиточную смолу веществ, выполняющих роль буфера, связывающего остающиеся в свободном состоянии продукты, а также продукты побочных реакций и процессов деструкции, примеси, а также активных сорбентов, поглощающих летучие соединения.

Исследованиями подтверждена эффективность действия биоцидного препарата, введенного в пропиточную смолу, на грамположительные (золотистый стафилококк – *Staphylococcus aureus*) и грамотрицательные (кишечная палочка – *Escherichia coli*) микроорганизмы. Изучение антибактериального эффекта, проведенное на фрагментах готового пластика, показало, что бактерицидная зона составляет более 4 мм. Биоцидный бумажно-слоистый пластик, в соответствии с последними требованиями ВНИИЖГ, обладает подтвержденными высокими антимикробными свойствами.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ**А**

Абзаева Н. В. 114
Абуева А. И. 102
Авдеева Н. Г. 116
Агапитов Д. С. 4
Айдинов Г. Т. 41
Айзатуллин А. А. 135
Алексеева Л. П. 77
Алёшкин В. А. 70
Алиева А. А. 23
Анисенкова Е. В. 66
Анисимова Л. В. 89
Антипова А. Ю. 52
Антонов В. А. 92, 102
Арсентьева Н. А. 68
Артюшина Ю. С. 4
Архангельская И. В. 77
Асташкин Е. И. 84
Афанасьев М. В. 53, 63, 69
Ахтямова Л. А. 135

Б

Багаутдинова Э. Г. 145
Бадамшин К. М. 142
Бадамшина Г. Г. 137, 156
Байзигитов Д. Р. 145
Бакиров А. Б. 156
Балакаева А. В. 139
Балахнова В. В. 23
Балахонов С. В. 53, 63
Барыбин А. С. 115
Батулин В. А. 125
Бобенко О. А. 4
Богумильчик Е. А. 69
Бондарева О. С. 102
Бондаренко А. П. 6
Борисова О. Ю. 70
Бороденко А. Ю. 125
Бочаров Е. П. 135
Будька Д. А. 114
Буржинский И. С. 161
Бурша О. С. 77
Бутакова Л. В. 6

В

Вакатова Л. В. 71
Валеева О. В. 137
Василенко Н. Ф. 35
Васильева Е. В. 73
Васильева О. В. 7
Вербов В. Н. 73, 120
Веркина Л. М. 81, 131, 163, 168
Викторов Д. В. 93
Водяницкая С. В. 100

Волох О. А. 116
Вольнкина А. С. 15, 35, 56, 58
Воропаев В. В. 12, 73, 75
Воскресенская Е. А. 69

Г

Габдулвалеева Э. Ф. 140
Газилова А. Ю. 75
Галлямова С. А. 140
Гаркуша Ю. Ю. 75
Герасименко Е. В. 8
Герасимова В. В. 59
Гнусарева О. А. 8, 54, 77
Говорова В. Г. 37
Головин С. Н. 163
Головинская Т. М. 12, 75
Головнева С. И. 112
Голубцова И. В. 142
Гончарова А. В. 71
Гостищева С. Е. 114
Григорьева С. А. 91
Григорьева Ю. В. 115
Гурвич В. Б. 167

Д

Даниленко О. Е. 110
Даукаев Р. А. 142
Дворцова И. В. 10, 40, 41
Дегтярев Д. Ю. 11, 12
Дегтярева Л. В. 8, 50
Демин А. М. 115
Детушева Е. В. 108
Дикова С. П. 15, 17, 58, 75, 117
Долгин В. А. 60
Драгомерецкая А. Г. 13
Дубель Е. В. 144
Дубянский В. М. 7
Дугаржапова З. Ф. 53
Дунайцев И. А. 128

Е

Евдокимова В. В. 77
Евстафьев И. Л. 4
Егиазарян Л. А. 81
Еременко Е. И. 57
Еремин С. А. 126
Ерошенко Г. А. 95
Ерш А. В. 119
Ершова О. Н. 84
Ефременко Д. В. 15, 17, 58, 75, 117

Ж

Жарникова Т. В. 64
Жданова Е. В. 133

Жиглецова С. К. 128
Жильцова А. Ю. 18

З

Забашта А. В. 40
Забашта М. В. 40
Заводова Е. И. 163
Задохин С. Н. 126
Зайцев А. А. 54, 77
Зайцев Б. Н. 87
Закревская А. В. 120
Залесских А. А. 18
Замарина Т. В. 123
Заручейнова О. В. 120
Зибарев Е. В. 154
Зинич Л. С. 20, 26
Зудинова Е. А. 165
Зуева Е. В. 69
Зуенко А. А. 114, 121

И

Иванова А. В. 22
Иванова Г. Ф. 114
Иванова Н. А. 80
Ильин А. В. 144
Ишмухаметова Э. Р. 135

К

Кальгина Г. А. 91
Кальной С. М. 75, 117
Карандашова И. В. x60
Каримов Д. О. 145
Каримова Л. К. 137
Карцев Н. Н. 84
Кацнельсон Б. А. 167
Ким Е. Э. 123
Киреев Ю. Г. 23
Киреева Е. П. 167
Кириллова А. В. 24, 131
Кирилова О. Д. 131, 168
Климов В. Т. 69
Клыкова М. В. 128
Князев Д. И. 82
Князева А. И. 84
Ковалев Д. А. 54, 62, 64, 112, 125, 129
Коваленко И. С. 26
Козлов С. Н. 86
Комарова С. В. 60
Комиссаров А. В. 116, 126
Кондрашенко Т. Н. 128
Корита Т. В. 6
Корнева А. В. 86
Корнеев Д. В. 87
Костюченко М. В. 88, 98, 104, 105, 107
Котенев Е. С. 35, 56
Котенева Е. А. 57

Котова А. А. 125
Кошель Е. И. 89
Кравец Е. В. 53
Красовский В. О. 156, 158
Кретенчук О. Ф. 77
Криворотова Е. Ю. 28
Криницына Э. В. 127
Кругликов В. Д. 77
Кругликова Н. В. 147
Кряжева Е. С. 30
Кузнецова И. В. 15, 17, 58
Кузьмин С. В. 167
Куклев В. Е. 89
Куличенко А. Н. 7, 77, 117
Куляшова Л. Б. 120
Курлаева Л. В. 91
Курчева С. А. 127, 133

Л

Лаврентьева И. Н. 52
Лазаренко Е. В. 31
Лебедева Е. Б. 60
Лев И. О. 128
Леванцова Я. В. 35, 56
Левченко Б. И. 8, 50
Леденева М. Л. 102
Лемасова Л. В. 92, 102
Леонтьева С. А. 32
Ливанова Л. Ф. 126
Лобовикова О. А. 126
Логвиненко О. В. 88, 98, 104, 105, 107
Логинова Н. В. 167
Лямкин Г. И. 62, 112

М

Мазепа А. В. 86
Макенов М. Т. 34
Малецкая О. В. 35
Малькова М. Г. 34
Мальчиков И. А. 115
Манин Е. А. 35
Марков Е. Ю. 86
Масалова В. И. 154
Мелентьев А. В. 148
Минигалиева И. А. 167
Миронова Л. В. 63
Миронова М. В. 147
Михайлова М. Е. 129
Мокриевич А. Н. 111, 112
Молчанова Е. В. 93
Монахова Е. В. 100
Москвитина Э. А. 10, 40, 41
Мукомолов С. Л. 59
Муратова М. В. 50
Муфтахова Г. Ф. 37
Мухаммадиева Г. Ф. 145

Н

Неверов А. Д. 60
Нененко О. И. 150
Нечаева Ю. Н. 62
Никифоров А. К. 116, 126
Николаев В. Б. 86
Никонов А. М. 119
Новикова Т. А. 151
Новичкова Л. А. 89, 95

О

Овсянникова Л. Б. 158
Оглодин Е. Г. 95
Останкова Ю. В. 52, 59
Остапович В. В. 38, 50

П

Павленко А. Л. 26
Павлов В. М. 111, 112
Панасовец О. П. 96
Пименов Н. Н. 60
Пименова А. С. 70
Писаренко С. В. 62
Пичурина Н. Л. 10, 40, 41
Плеханов Н. А. 97
Плышевский Г. В. 42
Полтавченко А. Г. 119
Пономаренко Д. Г. 88, 98, 104, 105, 107, 129
Попова П. Ю. 130
Преснякова Н. Б. 66
Привалова Л. И. 167

Р

Райкин С. С. 151
Ракитина Е. Л. 88, 98, 104, 105, 107
Родин В. Б. 108
Рока В. В. 120
Романова Л. В. 40
Рыбалко Т. И. 54, 77
Рыковская О. А. 100
Рязанова А. Г. 15, 17

С

Собенин В. М. 115
Савельев В. Н. 7
Савельева Е. И. 101
Савченко С. С. 92, 102
Сагакянц М. М. 100
Самохвалова Ю. И. 116
Саркисян Н. С. 88, 98, 104, 105, 107
Сахарнов Н. А. 82
Светоч Э. А. 84
Селянская Н. А. 168
Семакова А. П. 130
Семенко О. В. 35
Семенов А. В. 52, 59

Семирчева А. А. 127, 133
Сирица Ю. В. 125
Скоропись Е. В. 153
Слукин П. В. 108
Смирнова С. С. 80
Смоликова Л. М. 100
Созонова Т. А. 91
Солнцев Л. А. 42, 82
Соловьёв С. Ю. 86
Старикова В. Д. 82
Старцева О. Л. 127, 133
Степанов Е. Г. 158
Степанова К. Б. 42, 44, 81, 91, 110
Степанова Т. Ф. 81, 91
Сутункова М. П. 167
Сухарева К. Г. 110
Сухова М. А. 111
Сычева Т. Д. 66

Т

Таджидинов В. О. 45
Такайшвили В. Е. 53
Тимашева Г. В. 137
Тимофеев В. С. 112
Титова С. В. 168
Ткаченко Г. А. 92, 102
Товпинец Н. Н. 4
Толокнова Е. А. 159, 169
Тотолян А. А. 73
Тришина А. В. 81
Троценко О. Е. 6

У

Уваров М. Н. 116
Ульшина Д. В. 112
Унгурияну Т. Н. 144
Уткин О. В. 66, 82

Ф

Фаттахов Р. Г. 130
Федоров В. Н. 154
Феронов Д. А. 41
Феськова А. С. 126
Филатова Е. Н. 66
Фисун А. А. 114
Фищенко Р. Р. 156
Фурсова Н. К. 84
Фурсова Н. К. 108

Х

Хайтович А. Б. 20, 26
Харабаджахян Г. Д. 100
Хисамиев И. И. 158
Храпова Н. П. 123
Худолеев А. А. 38, 64
Хунхеева Ж. Ю. 63

Ц

Цапко Н. В. 4, 46
Ценева Г. Я. 69
Цыганкова О. И. 57, 75

Ч

Чащин В. П. 154
Чемисова О. С. 100
Черкасов А. В. 95
Чигвинцев В. М. 48
Чирко Ю. В. 110
Чуланов В. П. 60

Ш

Шагалина А. У. 145
Шакирова Л. И. 64

Шапошникова Л. И. 4
Шаяхметов О. Х. 77
Швед Е. И. 110
Шкарлет Г. П. 50
Шпак И. М. 102
Шульгина И. В. 126

Щ

Щипелева И. А. 81

Ю

Юдаева О. С. 159, 169

Я

Якименко В. В. 34
Янович С. Я. 117

СОДЕРЖАНИЕ

I. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА	4
Артюшина Ю. С. БЛОХИ РОДА <i>STENORPHTHALMUS</i> НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ	4
Бобенко О. А., Цапко Н. В., Товпинец Н. Н., Евстафьев И. Л., Шапошникова Л. И., Агапитов Д. С. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЗАПАДНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД 2014 Г.	4
Бутакова Л. В., Бондаренко А. П., Троценко О. Е., Корита Т. В. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ НОСИТЕЛЬСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ Г. ХАБАРОВСКА В 2013-2014 ГГ.	6
Васильева О. В., Савельев В. Н., Дубянский В. М., Куличенко А. Н. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ НА ПРИМЕРЕ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ	7
Герасименко Е. В., Дегтярева Л. В., Левченко Б. И., Гнусарева О. А. СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНОГО ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ В 2003-2012 ГГ.	8
Дворцова И. В., Москвитина Э. А., Пичурина Н. Л. ИКСОДОВЫЕ КЛЕЩИ – ПЕРЕНОСЧИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ	10
Дегтярев Д. Ю. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПРИРОДНОГО ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ НА ТЕРРИТОРИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ	11
Дегтярев Д. Ю., Воропаев В. В., Головинская Т. М. РАЗРАБОТКА ЭЛЕКТРОННОГО КАДАСТРА СИБИРЕЯЗВЕННЫХ СКОТОМО- ГИЛЬНИКОВ НА ТЕРРИТОРИИ ИЗОБИЛЬНЕНСКОГО РАЙОНА СТАВРО- ПОЛЬСКОГО КРАЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИС-ТЕХНОЛОГИЙ	12
Драгомерецкая А. Г. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОЧАГОВ НАНОФИЕТОЗА В УСЛОВИЯХ ПРИАМУРЬЯ	13
Ефременко Д. В., Рязанова А. Г., Дикова С. П., Кузнецова И. В., Волюнкина А. С. ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ СПЭБ ФКУЗ СТАВРОПОЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМ- НЫЙ ИНСТИТУТ РОСПОТРЕБНАДЗОРА ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ САНИТАРНО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ В КРЫМСКОМ ФЕДЕРАЛЬ- НОМ ОКРУГЕ В 2014 ГОДУ	15
Ефременко Д. В., Рязанова А. Г., Кузнецова И. В., Дикова С. П. ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ РАБОТЫ СПЭБ ФКУЗ СТАВРОПОЛЬСКИЙ ПРО- ТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ XXII ОЛИМПИЙ- СКИХ ЗИМНИХ ИГР И XI ПАРАЛИМПИЙСКИХ ЗИМНИХ ИГР 2014 ГОДА В Г. СОЧИ	17
Жильцова А. Ю. ФАУНИСТИЧЕСКИЕ КОМПЛЕКСЫ ГАМАЗОВЫХ КЛЕЩЕЙ ОБЩЕСТВЕН- НОЙ ПОЛЕВКИ И ЕЁ ГНЕЗД В ЦЕНТРАЛЬНОМ ПРЕДКАВКАЗЬЕ	18
Залесских А. А. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТИТА А И ГЕНОТИПИЧЕ- СКАЯ СТРУКТУРА ВИРУСА В КРУПНОМ ГОРОДЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ	18

Зинич Л. С., Хайтович А. Б. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ХОЛЕРОЙ	20
Иванова А. В. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ	22
Киреев Ю. Г., Балахнова В. В., Алиева А. А. АКТУАЛЬНОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ АНАМНЕСТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ЛИХОРАДКОЙ ЗАПАДНОГО НИЛА	23
Кириллова А. В. ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕЩЕЙ НА НАЛИЧИЕ ДНК <i>BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO</i> , <i>ANAPLASMA PHAGOCETOPHILUM</i> , <i>ERLICHIA MURIS</i> МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ СЕЗОН 2014 ГОДА	24
Коваленко И. С., Павленко А. Л., Зинич Л. С., Хайтович А. Б. УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА СИБИРСКОЙ ЯЗВОЙ	26
Криворотова Е. Ю. ОЦЕНКА ЭНТОМОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ДИРОФИЛЯРИОЗУ	28
Кряжева Е. С., Фаттахов Р. Г. ЗАРАЖЕННОСТЬ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ ЛИЧИНКАМИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОПИСТОРХОЗА И МЕТОРХОЗА В Р. ИРЮМ НА ЮГЕ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	30
Лазаренко Е. В. БЛОХИ, ПАРАЗИТИРУЮЩИЕ НА ТУШКАНЧИКАХ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА	31
Леонтьева С. А. ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	32
Макенов М. Т., Якименко В. В., Малькова М. Г. МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ТАЁЖНОГО КЛЕЩА (<i>IXODES PERSULCATUS</i> , SCHULZE, 1930) В СЕВЕРНОЙ ЛЕСОСТЕПИ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ	34
Манин Е. А., Василенко Н. Ф., Малецкая О. В., Семенко О. В., Котенёв Е. С., Вольнкина А. С., Леванцова Я. В. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В ЮЖНОМ И СЕВЕРО-КАВКАЗСКОМ ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГАХ В 2013 Г.	35
Муфтахова Г. Ф., Говорова В. Г. ЭХИНОКОККОЗ – ОСНОВНОЙ БИОГЕЛЬМИНТОЗ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН	37
Остапович В. В., Худолеев А. А. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ СТРАН	38
Пичурина Н. Л., Москвитина Э. А., Дворцова И. В., Романова Л. В., Забашта А. В., Забашта М. В. РОЛЬ ПТИЦ В ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРАНСМИССИВНЫХ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ	40

Пичурина Н. Л., Москвитина Э. А., Дворцова И. В., Феров Д. А., Айдинов Г. Т. ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДНОЙ ОЧАГОВОСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ	41
Пльшевский Г. В., Степанова К. Б. АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ СЕРОПОЗИТИВНЫХ РЕАКЦИЙ НА АНТИТЕЛА К ВИ- РУСУ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА ЭНДЕМИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ ТЮ- МЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	42
Солнцев Л. А. ЭЛЕКТРОННЫЙ АТЛАС КАК СРЕДСТВО СИСТЕМАТИЗАЦИИ ЭПИДЕМИО- ЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ И МОНИТОРИНГА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИ- ТУАЦИИ	42
Степанова К. Б. СТРУКТУРА МОНО- И МИКСТ- ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ТЮ- МЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	44
Таджидинов В. О. ЗАРАЖЕННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ТУЛЯРЕ- МИИ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ТАЁЖНОЙ ЗОНЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	45
Цапко Н. В. ОБ УНИФИКАЦИИ НАЗВАНИЙ ТАКСОНОВ НОСИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИ- КОВ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ	46
Чигвинцев В. М. МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ИНФЕКЦИОННОЙ ЗАБОЛЕВАЕМО- СТИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С КАЧЕСТВОМ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ	48
Шкарлет Г. П., Дегтярева Л. В., Левченко Б. И., Остапович В. В., Муратова М. В. ЛАНДШАФТНО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИРОДНОГО ОЧАГА ТУЛЯРЕМИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ	50
II. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ГЕНОМА В ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ	52
Антипова А. Ю., Останкова Ю. В., Лаврентьева И. Н., Семёнов А. В. ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ ПАРВОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА B19 (<i>PRIMATE ERYTHROPARVOVIRUS 1</i>)	52
Афанасьев М. В., Кравец Е. В., Такайшвили В. Е., Дугаржапова З. Ф., Балахонов С. В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> , ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА	53
Гнусарева О. А., Ковалев Д. А., Рыбалко Т. И., Зайцев А. А. ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ШТАММОВ ТУЛЯРЕМИЙ- НОГО МИКРОБА, ЦИРКУЛИРОВАВШИХ В ОЧАГЕ СТЕПНОГО ТИПА НА ТЕРРИТОРИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ В 2003-2013 ГГ.	54
Вольнкина А. С., Леванцова Я. В. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУ- СА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ, ВЫЯВЛЕННО- ГО В КЛЕЩАХ НА ЮГЕ РОССИИ	56
Котенев Е. С., Леванцова Я. В. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ <i>COXIELLA BURNETTI</i> НА ОТДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА	56
Котенева Е. А., Цыганкова О. И., Еременко Е. И. АНАЛИЗ <i>canSNP</i> ГЕНОТИПОВ ШТАММОВ <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> , ВЫДЕЛЕН- НЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА И ЗАКАВКАЗЬЯ	57

Кузнецова И. В., Вольнкина А. С., Дикова С. П., Ефременко Д. В. МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ СВЕЖЕВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ <i>YERSINIA PESTIS</i> ИЗ ПРИКАСПИЙСКОГО ПЕСЧАНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ	58
Останкова Ю. В., Семенов А. В., Мукомолов С. Л., Герасимова В. В. МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В (ВГВ) В РЕСПУБЛИКЕ ЯКУТИЯ	59
Пименов Н. Н., Карандашова И. В., Неверов А. Д., Долгин В. А., Лебедева Е. Б., Комарова С. В., Чуланов В. П. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА А В РОССИИ	60
Писаренко С. В., Ковалев Д. А., Нечаева Ю. Н., Лямкин Г. И. АНАЛИЗ ГЕНОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В ДНК ШТАММОВ <i>BRUCELLA MELITENSIS</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН В 2012-2013 ГГ.	62
Хунхеева Ж. Ю., Миронова Л. В., Афанасьев М. В., Балахонов С. В. ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИЛОКУСНОГО VNTR-АНАЛИЗА ПРИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ ТИПИРОВАНИИ ШТАММОВ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> , ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ	63
Шакирова Л. И., Ковалев Д. А., Жарникова Т. В., Худолеев А. А. ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ <i>BRUCELLA SUIС</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ НА ТЕРРИТОРИИ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА МЕТОДОМ MLVA-14	64
III. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ	66
Анисенкова Е. В., Преснякова Н. Б., Филатова Е. Н., Сычева Т. Д., Уткин О. В. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВАТОРОВ НА АПОПТОЗ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ	66
Арсентьева Н. А. ЦИТОКИНЫ И ХЕМОКИНЫ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С	68
Богумильчик Е. А., Зуева Е. В., Афанасьев М. В., Воскресенская Е. А., Климов В. Т., Ценева Г. Я. ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ ВИДОВ <i>YERSINIA ENTEROCOLITICA</i> -LIKE МЕТОДОМ MALDI TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ	69
Борисова О. Ю., Пименова А. С., Алёшкин В. А. МИКРОФЛОРА РОТОГЛОТКИ У БОЛЬНЫХ С ТОНЗИЛЛОФАРИНГИТОМ	70
Вакатова Л. В., Гончарова А. В. МИКРОБИОЦЕНОЗЫ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ	71
Васильева Е. В., Вербов В. Н., Тотолян А. А. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ	73
Воропаев В. В. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ БЕЛКОВЫХ ЭКСТРАКТОВ ВЕГЕТАТИВНЫХ КЛЕТОК <i>BACILLUS ANTHRACIS</i> , ВЫРАЩЕННЫХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	73
Воропаев В. В., Головинская Т. М., Цыганкова О. И. ИЗУЧЕНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К СПЕЦИФИЧЕСКИМ БАКТЕРИОФАГАМ	75

- Гаркуша Ю. Ю., Дикова С. П., Газилова А. Ю., Ефременко Д. В., Кальной С. М.** 75
УНИФИЦИРОВАННАЯ УКЛАДКА ДЛЯ ЗАБОРА И ТРАНСПОРТИРОВКИ ПРОБ БИОМАТЕРИАЛА И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
- Гнусарева О. А., Куличенко А. Н., Зайцев А. А., Рыбалко Т. И., Шаяхметов О. Х.** 76
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АЛГОРИТМА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ НА ТУЛЯРЕМИЮ В ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ
- Евдокимова В. В., Алексеева Л. П., Кретенчук О. Ф., Бурша О. С., Кругликов В. Д., Архангельская И. В.** 78
АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНЫМ ПОВЕРХНОСТНЫМ АНТИГЕННЫМ ДЕТЕРМИНАНТАМ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ O1 И O139 СЕРОГРУПП
- Иванова Н. А., Смирнова С. С., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф.** 80
ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ М И G К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ
- Егиазарян Л. А., Тришина А. В., Веркина Л. М., Щипелева И. А.** 81
ЦИПРОФЛОКСАЦИН И МОКСИФЛОКСАЦИН В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИОННО-ТОКСИЧЕСКОЙ ЧУМЫ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ВЫЗВАННОЙ F1⁺ И F1-ВАРИАНТАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ
- Князев Д. И., Солнцев Л. А., Старикова В. Д., Сахарнов Н. А., Уткин О. В.** 82
БИОЧИП ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ СПЛАЙСИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ мРНК РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННОГО СИГНАЛИНГА АПОПТОЗА
- Князева А. И., Асташкин Е. И., Карцев Н. Н., Ершова О. Н., Светоч Э. А., Фурсова Н. К.** 84
ХАРАКТЕРИСТИКА НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВОЙ КОНЪЮГАТИВНЫЙ ПЕРЕНОС ПЛАЗМИД, НЕСУЩИХ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
- Козлов С. Н., Корнева А. В., Соловьёв С. Ю., Николаев В. Б., Марков Е. Ю., Мазепа А. В.** 86
ОБНАРУЖЕНИЕ ПРОТЕАЗНОЙ И ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ *FRANCISELLA TULARENSIS* РАЗНЫХ ПОДВИДОВ
- Корнеев Д. В., Зайцев Б. Н.** 87
АТОМНО-СИЛОВАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ОДИНОЧНЫХ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ
- Костюченко М. В., Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г., Ракитина Е. Л., Логвиненко О. В.** 88
ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO* У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ
- Кошель Е. И., Куклев В. Е., Анисимова Л. В., Новичкова Л. А.** 89
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *hms* ОПЕРОНА ДЛЯ АНАЛИЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ У ШТАММОВ *Yersinia pestis* МЕТОДОМ ОТ-ПЦР-РВ ОЦЕНКИ КОЛИЧЕСТВА мРНК
- Курлаева Л. В., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф., Кальгина Г. А., Григорьева С. А., Созонова Т. А.** 91
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ
- Лемасова Л. В., Савченко С. С., Ткаченко Г. А., Антонов В. А.** 92
ИНДИКАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ В КОНТАМИНИРОВАННЫХ ОБРАЗЦАХ МЕТОДОМ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР

Молчанова Е. В., Викторов Д. В. ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСЕРЦИОННЫХ ТРАНСПОЗОННЫХ МУТАНТОВ <i>BURKHOLDERIA MALLEI</i> , ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ EZ::TN<R6K _{ori} /KAN-2>Tnp	93
Оглодин Е. Г., Черкасов А. В., Новичкова Л. А., Ерошенко Г. А. СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ КРИПТИЧЕСКОЙ ПЛАЗМИДЫ И ПЦР-ДЕТЕКЦИЯ СОДЕРЖАЩИХ ЕЕ ШТАММОВ <i>YERSINIA PESTIS</i> ИЗ ЦЕНТРАЛЬНО- КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ОЧАГА ЧУМЫ	95
Панасовец О. П. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ, ВЫДЕ- ЛЕННЫХ ИЗ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ	96
Плеханов Н. А. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СТРУКТУРНЫЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАН- НОЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИХ ПИЛЕЙ АДГЕЗИИ В ШТАММАХ ГЕНОВАРИАНТОВ <i>VIBRIO CHOLERAЕ</i> БИОВАРА ЭЛЬ ТОР	97
Пономаренко Д. Г., Саркисян Н. С., Костюченко М. В., Ракитина Е. Л., Логвиненко О. В. ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ УЧЕТА РЕАКЦИИ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ <i>IN VITRO</i> ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА К ВОЗБУДИТЕЛЮ БРУЦЕЛЛЕЗА	98
Рыковская О. А., Чемисова О. С., Смоликова Л. М., Монахова Е. В., Сагакянц М. М., Харабаджахян Г. Д., Водяницкая С. В. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ГАЛОФИЛЬНЫХ ВИ- БРИОНОВ ТРАДИЦИОННЫМ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕ- ТОДАМИ	100
Савельева Е. И. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТИПИЧНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В БИОВАРАХ ЭЛЬ ТОР	101
Савченко С. С., Шпак И. М., Леденева М. Л., Бондарева О. С., Ткаченко Г. А., Лемасова Л. В., Абуева А. И., Антонов В. А. СБОРКА ГЕНОМА <i>BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI 110</i> НА ОСНОВЕ ДАННЫХ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ	102
Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г., Костюченко М. В., Логвиненко О. В., Ракитина Е. Л. АДАПТИВНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ИММУННОМ СТАТУ- СЕ У БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ СПЕЦИФИЧЕ- СКОЙ АЛЛЕРГИЗАЦИИ	104
Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г., Костюченко М. В., Ракитина Е. Л., Логвиненко О. В. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА	105
Саркисян Н. С., Пономаренко Д. Г., Костюченко М. В., Ракитина Е. Л., Логвиненко О. В. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА НА ИМ- МУННЫЙ СТАТУС БИОМОДЕЛЕЙ	107
Слукин П. В., Родин В. Б., Дегушева Е. В., Фурсова Н. К. ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ХЛОРИДУ БЕНЗАЛКОНИЯ У КЛЕ- ТОК <i>ESCHERICHIA COLI</i> ATCC 25922 В АГРЕГИРОВАННОМ И ДЕЗАГРЕГИРО- ВАННОМ СОСТОЯНИИ	108
Степанова К. Б., Швед Е. И., Чирко Ю. В., Даниленко О. Е., Сухарева К. Г. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНО-ХРОНИЧЕСКО- ГО ПРИОБРЕТЕННОГО ТОКСОПЛАЗМОЗА	110

Сухова М. А., Мокриевич А. Н., Павлов В. М. ВЛИЯНИЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i>	111
Тимофеев В. С., Мокриевич А. Н., Павлов В. М. РОЛЬ НУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В V ДОМЕНЕ 23S РНК <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> В ФОРМИРОВАНИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ТУЛЯРЕМИЙНОГО МИКРОБА К ЭРИТРОМИЦИНУ	112
Ульшина Д. В., Ковалев Д. А., Головнева С. И., Лямкин Г. И. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИДЕНТИФИКАЦИИ <i>BRUCELLA SPP.</i> С ИСПОЛЬ- ЗОВАНИЕМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ	112
IV. НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ	114
Абзаева Н. В., Зуенко А. А., Фисун А. А., Гостищева С. Е., Будыка Д. А., Иванова Г. Ф. ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ СО СНИЖЕННЫМ ЧИСЛОМ ДОЗ ПУТЕМ ОПТИМИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЭТАПОВ	114
Барыбин А. С., Демин А. М., Собенин В. М., Григорьева Ю. В., Мальчиков И. А. БИОКОНЪЮГАЦИЯ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК С АНТИТЕЛАМИ	115
Волох О. А., Комиссаров А. В., Уваров М. Н., Самохвалова Ю. И., Авдеева Н. Г., Никифоров А. К. КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ <i>FRANCISELLA TULARENSIS</i> МЕТОДОМ ТАНГЕНЦИ- АЛЬНОЙ МИКРОФИЛЬТРАЦИИ	116
Дикова С. П., Янович С. Я., Ефременко Д. В., Куличенко А. Н., Кальной С. М. ВАРИАНТЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЖИДКОСТНЫХ ЯЧЕЕК ДЛЯ МИКРО- ГРАВИМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА АНТИГЕНОВ И РАСТВОРОВ ИММУНО- ГЛОБУЛИНОВ	117
Ерш А. В., Полтавченко А. Г., Никонов А. М. МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ПАТОГЕНОВ	119
Заручейнова О. В., Закревская А. В., Куляшова Л. Б., Рока В. В., Вербов В. Н. АПРОБАЦИЯ НАБОРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ <i>UREAPLASMA UREALYTICUM</i> И <i>MY- COPLASMA HOMINIS</i> И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬ- НОСТИ	120
Зуенко А. А. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ДИАГНО- СТИКУМА БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ЖИДКОГО ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ, СУСПЕНЗИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ	121
Ким Е. Э, Храпова Н. П., Замарина Т. В. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ КОНЪЮГАТЫ, ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИЕ НА ОСНО- ВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ 200 КДА <i>B. PSEUDOMALLEI</i> : ПОЛУЧЕНИЕ, СПЕЦИФИЧНОСТЬ И СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ	123
Ковалев Д. А., Котова А. А., Бороденко А. Ю., Сирица Ю. В., Батурин В. А. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НИОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЦЕФОТАК- СИМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БИОМОДЕЛЯХ ПРИ ВВЕДЕНИИ PER OS	125
Комиссаров А. В., Еремин С. А., Феськова А. С., Задохин С. Н., Ливанова Л. Ф., Лобовикова О. А., Шульгина И. В., Никифоров А. К. НОВЫЙ СОСТАВ ТАБЛЕТОК ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ	126

Курчева С. А., Старцева О. Л., Семирчева А., Криницына Э. В. КОНСТРУИРОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БРУЦЕЛЛЕЗА В НЕПРЯМОМ МЕТОДЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА	127
Лев И. О., Дунайцев И. А., Клыкова М. В., Жиглецова С. К., Кондрашенко Т. Н. ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА АНТИФУНГАЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ <i>GEOBACILLUS THERMOGLUCOSIDASIUS</i>	128
Михайлова М. Е., Ковалев Д. А., Пономаренко Д. Г. ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ НИСОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ОФЛОКСАЦИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БИОПРОБНЫХ ЖИВОТНЫХ	129
Попова П. Ю., Семакова А. П. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ <i>IN VITRO</i> ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИБИРЕЯЗВЕННЫХ ВАКЦИН – КОНСТРУИРОВАНИЕ БЕЗОПАСНОГО ПРОДУЦЕНТА СУБЪЕДИНИЦЫ ЛЕТАЛЬНОГО ТОКСИНА	130
Селянская Н. А., Кирилова О. Д., Веркина Л. М. АКТИВНОСТЬ ФТОРХИНОЛОНОВ В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ НЕ О1/НЕ О139 СЕРОГРУПП, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЛЮДЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ	131
Семирчева А. А., Курчева С. А., Старцева О. Л., Жданова Е. В. РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ КАПСУЛЬНЫХ И БЕСКАПСУЛЬНЫХ ШТАММОВ <i>Y. PESTIS</i>	133
V. АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНЫ ТРУДА И ОЦЕНКИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ	135
Ахтямова Л. А., Айзатуллин А. А., Ишмухаметова Э. Р., Бочаров Е. П. ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ВЫБРОСОВ ОАО «КАМАЗ»	135
Бадамшина Г. Г., Каримова Л. К., Тимашева Г. В., Валеева О. В. ОЦЕНКА РИСКА УСЛОВИЙ ТРУДА КАК МЕХАНИЗМ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У РАБОТНИКОВ ПРОИЗВОДСТВА СИНТЕТИЧЕСКИХ СМОЛ	137
Балакаева А. В. САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ УЧАСТКА ПО ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЮ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АППАРАТНЫХ МЕТОДОВ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ	139
Галлямова С. А., Габдулвалеева Э. Ф. ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У НЕФТЯНИКОВ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИИ	140
Даукаев Р. А., Бадамшин К. М., Голубцова И. В. ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ СНЕЖНОГО И ПОЧВЕННОГО ПОКРОВОВ КРУПНОГО ПРОМЫШЛЕННОГО ГОРОДА	142
Дубель Е. В., Унгурияну Т. Н., Ильин А. В. РИСК РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНЕЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ, СВЯЗАННЫЙ С ТАБАКОКУРЕНИЕМ	144
Каримов Д. О., Шагалина А. У., Байзигитов Д. Р., Мухаммадиева Г. Ф., Багаутдинова Э. Г. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ	145

Кругликова Н. В., Миронова М. В. К ВОПРОСУ УКРЕПЛЕНИЯ СИСТЕМЫ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ЗДОРОВЬЯ	147
Мелентьев А. В. ОЦЕНКА ЧАСТОТНОГО АНАЛИЗА СЕРДЕЧНОГО РИТМА У РАБОЧИХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ	148
Нененко О. И. ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ У РАБОЧИХ ПЫЛЕВЫХ ПРОФЕССИЙ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ НАГРУЗОЧНЫХ ПРОБ	150
Райкин С. С., Новикова Т. А. АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ АДАПТАЦИИ У ТРАКТОРИСТОВ-МАШИНИСТОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ	151
Скоропись Е. В. ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У РАБОЧИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАШИНОСТРОЕНИЯ РКК «ЭНЕРГИЯ»	153
Федоров В. Н., Зибарев Е. В., Чащин В. П., Масалова В. И. БОЛЕЗНИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КАК ИНДИКАТОР ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА (НА ПРИМЕРЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВЫБРОСОВ АСТРАХАНСКОГО ГАЗОВОГО КОМПЛЕКСА)	154
Фищенко Р. Р., Бадамшина Г. Г., Бакиров А. Б., Красовский В. О. ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ВОЗДУХА И МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ С ПОВЕРХНОСТЕЙ ОБОРУДОВАНИЯ И ИНВЕНТАРЯ В КРУПНОМ МНОГОПРОФИЛЬНОМ МЕДИЦИНСКОМ УЧРЕЖДЕНИИ	156
Хисамиев И. И., Овсянникова Л. Б., Красовский В. О., Степанов Е. Г. ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ РИСКИ У ВОДИТЕЛЕЙ ОБЩЕСТВЕННОГО ТРАНСПОРТА	158
Юдаева О. С., Толочнова Е. А. СПЕЦИФИКА ТРУДА И ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПРОВОДНИКОВ ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ	159
VI. САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	161
Буржинский И. С. О ПРОБЛЕМАХ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ	161
Головин С. Н., Веркина Л. М. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОТХОДОВ КЛАССА В	163
Заводова Е. И. АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА ЗДОРОВЬЕ НАСЕЛЕНИЯ САРАНСКА РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ	163
Зудинова Е. А. АНАЛИЗ ОБЪЕМОВ НАКОПЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ В МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЯХ ГОСУДАРСТВЕННОЙ СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВА	165
Кацнельсон Б. А., Привалова Л. И., Сутункова М. П., Гурвич В. Б., Кузьмин С. В., Логинова Н. В., Минигалиева И. А., Киреева Е. П. НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦ	167
Кирилова О. Д., Титова С. В., Селянская Н. А., Веркина Л. М. ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛОВОГО СПИРТА НА БИОПЛЕНКИ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ	168
Юдаева О. С., Толочнова Е. А. РАЗРАБОТКА САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ТРЕБОВАНИЙ К СОВРЕМЕННЫМ ПОЛИМЕРНЫМ ПОКРЫТИЯМ И ИЗДЕЛИЯМ ДЛЯ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНЫХ ВОКЗАЛОВ И ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ	169

Научное издание

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ
Материалы Всероссийской научно-практической конференции
молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора
22 - 24 октября 2014 г., Ставрополь

Подписано в печать 14.10.2014. Формат 84 x 108 1/8.
Печать офсетная. Уч.-печ. л. - 11,75. Уч.-изд. л. - 10,93.
Тираж 100 экз. Заказ № 958.

Тираж изготовлен в ООО «Экспо-Медиа», г. Ставрополь, пр-т Кулакова, 37а
с оригинал-макета заказчика.
Ответственность за содержание предоставленных материалов несет заказчик.