

Д.В.Ефременко, И.В.Кузнецова, В.В.Остапович

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ РЕЖИМОВ ЭКСПЛУАТАЦИИ ПРИБОРНОЙ БАЗЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НА НАЛИЧИЕ ПАТОГЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В МОДЕЛЬНЫХ ОПЫТАХ

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Экспериментально определить оптимальные режимы эксплуатации неспецифического детектора IBAC, интегрированного с пробоотборником C100, и пробоотборника BioCapture в модельных опытах при работе в различных условиях окружающей среды и при распылении биологического аэрозоля. *Материалы и методы.* Для контроля атмосферного воздуха на наличие патогенных биологических агентов (ПБА) применяли неспецифический детектор IBAC с пробоотборником C100 и пробоотборник BioCapture. Для приготовления биоаэрозолей использовали штамм *Salmonella typhimurium* 9640 и бычий сывороточный альбумин. *Результаты.* Экспериментально установлено, что оптимально программирование IBAC на включение биосигнализации при поддержании концентрации биоаэрозоля в атмосферном воздухе выше порогового уровня в течение 10 сек. При данном режиме работы его чувствительность составляет 1×10^3 м.к./мл аэрозоля. Продемонстрирована возможность эксплуатации изучаемой приборной базы в различных условиях окружающей среды внутри и вне помещений. *Заключение.* В результате проведенных опытов доказана эффективность применения неспецифического детектора IBAC с пробоотборником C100 и пробоотборника BioCapture для мониторинга атмосферного воздуха на наличие ПБА. IBAC с C100 может использоваться в качестве оборудования поста контроля атмосферного воздуха в период проведения массовых мероприятий, а BioCapture подходит для оснащения групп эпидемиологической разведки.

Журн. микробиол., 2017, № 2, С. 81—86

Ключевые слова: детектор биологических аэрозолей, пробоотборник воздуха, патогенные биологические агенты, массовые мероприятия, пост контроля атмосферного воздуха

D.V.Efremenko, I.V.Kuznetsova, V.V.Ostapovich

DEFINITION OF THE OPTIMUM MODES OF OPERATION OF AIR-MONITORING INSTRUMENTATION FOR DETECTION OF PATHOGENIC BIOLOGICAL AGENTS IN MODEL EXPERIMENTS

Stavropol Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. To experimentally define the optimum modes of operation of the nonspecific detector IBAC integrated with C100 sampler and BioCapture sampler in model experiments during the work in various environmental conditions and at dispersion of the biological aerosol. *Materials and methods.* The nonspecific detector IBAC with the C100 sampler and the BioCapture sampler were used for air-monitoring test on existence of pathogenic biological agents (PBA). For preparation of the bioaerosols the strain of *Salmonella typhimurium* 9640 and a bull serum albumin were used. *Results.* It is experimentally established that programming of IBAC on turning on the bioalarm system when maintaining concentration of bioaerosol in air above threshold level during 10 sec. is optimum. Its sensitivity makes 1×10^3 m.c./ml of aerosol at this mode. The possibility of operation of air-monitoring instrumentation in various environmental conditions inside and outside is shown. *Conclusion.* As a result of the experiment the effectiveness of usage of the nonspecific detector IBAC with the C100 sampler and

BioCapture sampler for air-monitoring on existence of PBA is proved. IBAC with C100 can be used as an inventory of the station of air-monitoring during the public events, and BioCapture is suitable for equipment of the groups of epidemiological investigation.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 2, P. 81–86

Key words: detectors of biological aerosols, air sampler, pathogenic biological agents, public events, station of air-monitoring

ВВЕДЕНИЕ

Посты контроля атмосферного воздуха на наличие патогенных биологических агентов (ПБА) — одно из звеньев системы профилактики и реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера. Особую актуальность использование постов контроля приобретает во время проведения массовых мероприятий, когда возрастает угроза террористических атак с применением биологического аэрозоля [1, 3 – 5].

Принципиальный и важный вопрос — выбор приборной базы для оснащения постов контроля. Исходя из решаемых задач в период массовых мероприятий с целью обеспечения мобильности нами ранее было предложено использовать небольшие по габаритным размерам и весу неспецифический детектор биологических аэрозолей IBAC, интегрированный с пробоотборником атмосферного воздуха C100, и пробоотборник атмосферного воздуха BioCapture [1, 2]. Для внедрения и применения в системе эпидемиологического надзора данного оборудования необходимо изучение его характеристик при различных условиях работы и распылении ПБА, определение оптимальных режимов эксплуатации.

Цель — экспериментально определить оптимальные режимы эксплуатации неспецифического детектора IBAC, интегрированного с пробоотборником C100, и пробоотборника BioCapture в модельных опытах при работе в различных условиях окружающей среды и при распылении биологического аэрозоля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления биологических аэрозолей использовали бычий сывороточный альбумин (БСА) и штамм *Salmonella typhimurium* 9640. Чашки Петри с агаром Хоттингера (рН 7,2) с культурой *S. typhimurium* инкубировали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 сут. Приготовление микробных взвесей проводили по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ОСО 42-28-59-86П).

Для распыления аэрозоля использовали аэрозольный генератор САГ-2М (ООО «Центр ветеринарного обеспечения»), компрессор Fubag GMB Mod. OL 231-24 CM 2. Для контроля атмосферного воздуха на наличие ПБА применяли неспецифический детектор IBAC с пробоотборником C100 в комплекте (FLIR Systems, США) — 2 шт., пробоотборник BioCapture в комплекте (FLIR Systems, США).

Распыление аэрозоля с ПБА проводили в камере бокса микробиологической безопасности III класса объемом $0,5 \text{ м}^3$, где размещалось необходимое оборудование и материалы: 2 неспецифических детектора IBAC с пробоотборником C100; один из них был запрограммирован на включение биосигнализации при поддержании концентрации биологического аэрозоля в атмосферном воздухе выше порогового уровня в течение 10 сек. (время отклика), другой

— в течение 60 сек.; пробоотборник BioCapture; чашки Петри с агаром Хоттингера (рН 7,2) — 5 шт. (перед распылением аэрозоля крышки с чашек Петри были сняты); емкость с закрытой крышкой, в которую помещались флаконы с раствором для концентрирования пробы аэрозоля и промаркированные флаконы для пробы к пробоотборнику С100; в шлюзе находился поддон для переноса проб.

После распыления крышки чашек Петри закрывали. Проводилась первичная обработка всех поверхностей дезраствором и включалась вытяжная вентиляция на 10 мин. Из пробоотборников С100 и BioCapture извлекали пробы в соответствии с инструкциями к приборам. Все флаконы и чашки Петри обрабатывались двукратным протиранием с интервалом 15 мин. 0,1% раствором Хлормисепт-Р, затем помещались на поддон, размещенный в шлюзе и переносились в бокс биологической безопасности II класса, где осуществлялась дальнейшая работа.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью специализированного программного обеспечения, поставляемого в комплекте с ИВАС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения влияния факторов окружающей среды на работу неспецифического детектора ИВАС прибор тестировался внутри помещения при температуре $(24 \pm 4)^\circ\text{C}$, а также вне помещений при температуре $(2 \pm 1)^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(95 \pm 2)\%$; при температуре $(5 \pm 2)^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(80 \pm 2)\%$; при температуре $(9 \pm 2)^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(65 \pm 2)\%$. ИВАС программировали на включение биосигнализации при поддержании концентрации аэрозоля в атмосферном воздухе выше пороговой последовательно в течение 10, 20, 30, 40, 50 и 60 сек.

В ходе эксперимента не было определено превышения порогового уровня величин ни по одному из показателей измерения: присутствие частиц диаметром до 1,5 мкм, присутствие частиц диаметром более 1,5 мкм, присутствие биологических частиц.

Таким образом, при эксплуатации ИВАС внутри и вне помещений при различных показателях температуры окружающей среды и влажности атмосферного воздуха отсутствовали ложноположительные результаты, что может свидетельствовать о возможности его использования на объектах при разных метеоусловиях.

Для определения оптимальных режимов эксплуатации ИВАС, интегрированного с пробоотборником С100, и пробоотборника BioCapture из культуры микробных клеток штамма *S. typhimurium* 9640 готовили микробную взвесь в дистиллированной воде в концентрации 1×10^9 м.к./мл. Конечный объем для данного разведения — 50 мл.

Распыление аэрозоля (50 мл) проводили в течение 1 мин. Неспецифический детектор ИВАС, запрограммированный на время отклика 10 сек., сработал через 30 сек. после начала распыления. Автоматический отбор пробы воздуха продолжался в течение 2 мин. ИВАС, запрограммированный на время отклика 60 сек., не сработал. Во время работы биосигнализации аэрозоль имел следующие характеристики: общее число аэрозольных частиц — $0,6 - 0,9 \times 10^6$ на 1 л обследуемого воздуха, при этом количество флуоресцирующих частиц составило $0,1 - 0,6 \times 10^6$ частиц на 1 л, $73,5 \pm 3,5\%$ подсчитанных аэрозольных частиц имели размеры от 1,5 до 10 мкм.

Пробоотборник BioCapture был запущен вручную через 40 сек. после на-

чала распыления. Отбор пробы воздуха продолжался в течение 2 мин. 30 сек. с концентрированием пробы в жидкости в течение последующих 2 мин. 30 сек.

Были сделаны посевы отобранных проб с помощью С100 и BioCapture в объеме 0,1 мл на чашки Петри с агаром Хоттингера (рН 7,2), которые затем поместили в термостат при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на 24 ч. Через сутки инкубации на всех чашках с посевами как выполненных из отобранных проб с помощью С100 и BioCapture, так и контрольных, размещенных во время распыления в боксе биологической безопасности III класса, наблюдался сплошной (сливной) рост.

При исследовании нативных проб, отобранных с помощью пробоотборников С100 и BioCapture, и проб, приготовленных из посевов с культурами микроорганизмов, методом ПЦР во всех случаях была обнаружена ДНК *Salmonella* spp.

В результате проведенного испытания неспецифического детектора ИВАС, интегрированного с пробоотборником С100, и пробоотборника BioCapture установлено: ИВАС обеспечивает проведение мониторинга атмосферного воздуха на наличие ПБА в режиме реального времени; при превышении в контролируемой зоне концентрации ПБА выше порогового уровня в зависимости от запрограммированного времени отклика у ИВАС автоматически включается биосигнализация и с помощью С100 осуществляется отбор пробы воздуха; программирование ИВАС на время отклика 60 сек. не позволило обнаружить присутствие биологического аэрозоля в атмосферном воздухе; в отобранных пробах с помощью пробоотборников С100 и BioCapture методом ПЦР обнаружена ДНК *Salmonella* spp., в посевах получена культура возбудителя.

Таким образом, продемонстрирована возможность применения испытуемого оборудования для мониторинга атмосферного воздуха на наличие биологического аэрозоля с последующей специфической индикацией и выделением культуры патогена в условиях лаборатории. Однако программирование ИВАС на время отклика 60 сек. может привести к ложноотрицательным результатам определения ПБА в атмосферном воздухе.

Дальнейшей задачей была оценка пороговой чувствительности неспецифического детектора ИВАС. Для этого из культуры микробных клеток штамма *S. typhimurium* 9640 готовили микробную взвесь в дистиллированной воде в разведениях от 1×10^4 м.к./мл до 1×10^2 м.к./мл. Конечный объем для каждого разведения — 50 мл. Испытания проводили по вышеописанной методике с исследованием отобранных проб методом ПЦР. Используемый в опыте ИВАС был запрограммирован на время отклика 10 сек.

При распылении культуры ПБА в разведении 1×10^2 м.к./мл ИВАС не сработал. При использовании разведений 1×10^3 м.к./мл и 1×10^4 м.к./мл биосигнализация включилась через 34 и 37 сек. соответственно после начала распыления. Автоматический отбор пробы воздуха пробоотборником С100 продолжался в течение 75 сек. в первом случае (разведение 1×10^3 м.к./мл) и 85 сек. во втором (разведение 1×10^4 м.к./мл). При исследовании данных проб методом ПЦР была обнаружена ДНК *Salmonella* spp.

Характеристики распыляемых аэрозолей были следующие: концентрация ПБА 1×10^2 мк/мл — общее число аэрозольных частиц $0,5 - 0,9 \times 10^6$ на 1 л воздуха, число флуоресцирующих частиц в 1 л воздуха $0,05 - 0,1 \times 10^6$, соотношение крупных частиц (более 1,5 мкм) к общему числу частиц $65,0 \pm 5,0\%$; концентрация ПБА 1×10^3 мк/мл — общее число аэрозольных частиц $0,6 - 0,9 \times 10^6$ на 1 л воздуха, число флуоресцирующих частиц в 1 л воздуха $0,1 - 0,45$

$\times 10^6$, соотношение крупных частиц (более 1,5 мкм) к общему числу частиц $73,5 \pm 3,5\%$; концентрация ПБА 1×10^4 мк/мл — общее число аэрозольных частиц $0,6 - 0,9 \times 10^6$ на 1 л воздуха, число флуоресцирующих частиц в 1 л воздуха $0,1 - 0,55 \times 10^6$, соотношение крупных частиц (более 1,5 мкм) к общему числу частиц $73,5 \pm 3,5\%$.

В результате проведенного испытания установлено, что пороговая чувствительность неспецифического детектора ИВАС, запрограммированного на время отклика 10 сек., при распылении ПБА в камере объемом $0,5 \text{ м}^3$ составляет 1×10^3 м.к./мл аэрозоля с возможностью последующей специфической детекции возбудителя методом ПЦР.

Следующей задачей было тестирование ИВАС при работе на открытом пространстве. Для имитации аэрозоля с ПБА использовали раствор БСА. Навеску БСА 4,75 г растворили в 50 мл дистиллированной воды. Конечная концентрация БСА составила 0,095 г/мл.

Для детекции биологического аэрозоля использовали 2 неспецифических детектора ИВАС (один из них был запрограммирован на время отклика 10 сек., другой — 60 сек.). Распыление аэрозоля (50 мл) проводили в течение 1 мин. на открытом пространстве.

В результате ИВАС, запрограммированный на время отклика 10 сек., сработал через 30 сек. после начала распыления, а ИВАС, запрограммированный на время отклика 60 сек. — через 75 сек.

Во время работы биосигнализации распыляемый аэрозоль имел следующие характеристики: общее число аэрозольных частиц $0,8 - 0,9 \times 10^6$ на 1 л обследуемого воздуха; количество флуоресцирующих частиц $0,7 - 0,8 \times 10^6$ на 1 л; $70,0 \pm 20,0\%$ из подсчитанных аэрозольных частиц имели размеры $1,5 - 10$ мкм.

В результате проведенных экспериментов показана эффективность применения неспецифического детектора ИВАС, интегрированного с пробоотборником С100, и пробоотборника BioCapture для мониторинга атмосферного воздуха на наличие ПБА с возможностью последующей специфической индикацией возбудителя в условиях лаборатории. При работе ИВАС внутри и вне помещений при различных показателях температуры окружающей среды и влажности атмосферного воздуха отсутствовали ложноположительные результаты. Экспериментально установлено, что чувствительность ИВАС, запрограммированного на время отклика 10 сек., при распылении жидкости с ПБА в камере объемом $0,5 \text{ м}^3$ составляет 1×10^3 м.к./мл.

Таким образом, испытанное оборудование подходит для решения задач по обнаружению биологического аэрозоля. Неспецифический детектор ИВАС с пробоотборником С100 может использоваться в составе поста контроля атмосферного воздуха в период проведения массовых мероприятий внутри и вне помещений, а пробоотборник BioCapture применяться специалистами из групп эпидемиологической разведки.

Результаты проведенных исследований стали основанием для подготовки предложений по оснащению специализированных противоэпидемических бригад Роспотребнадзора приборной базой для детекции биоаэрозоля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефременко Д.В., Зайцева О.А., Кузнецова И.В., Куличенко А.Н. Пост контроля атмосферного воздуха на наличие патогенных биологических агентов и его значение в системе противодействия биологической угрозе. Журн. микробиол. 2014, 1: 80-85.

2. Куличенко А.Н., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Зайцева О.А. Обеспечение готовности специализированных противоэпидемических бригад к работе при проведении массовых мероприятий. Журн. микробиол. 2014, 1: 76-80.
3. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., Зайцева О.А., Ефременко Д.В. Опыт стран-организаторов Олимпиад по обеспечению защиты от биологической угрозы. Журн. микробиол. 2014, 1: 70-75.
4. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Малецкая О.В., Таран Т.В., Дубянский В.М., Семенко О.В., Агапитов Д.С., Грижебовский Г.М., Манин Е.А., Клиндухов В.П., Оробей В.Г., Антоненко А.Д. Анализ зарубежного опыта обеспечения биологической безопасности при проведении Олимпийских игр. Журн. микробиол. 2015, 2: 105-109.
5. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Топорков В.П., Смоленский В.Ю., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Современные угрозы и вызовы в области биологической безопасности и стратегия противодействия. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 3: 5-9.

Поступила 25.12.16

Контактная информация: Ефременко Дмитрий Витальевич, к. м. н., 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652) 26-03-12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

С.И.Семенов, А.И.Федоров, В.Л.Осаковский, С.С.Максимова, Ф.А.Платонов

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА IL28B И ГЕНОТИПОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С У НАСЕЛЕНИЯ ЯКУТИИ: КЛИНИЧЕСКИЕ ИСХОДЫ

НИИ здоровья Северо-Восточного федерального университета им. М.К.Аммосова, Якутск

Цель. Изучить клинические исходы у пациентов с хроническим гепатитом С (НСV) в зависимости от генотипа вируса гепатита С и полиморфизма гена IL28B. *Материалы и методы.* Обследованы 592 человека, из них у 75 методом ПЦР определены генотипы РНК НСV. Проведено генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов SNP — rs12979860 (С/Т) и rs8099917 (Т/Г) в гене IL28B методом ПЦР в режиме реального времени. *Результаты.* У 72 обследованных жителей Якутии была выявлена РНК НСV. Генотип 1b НСV определен в 74,2% случаев, 3a — в 11,4%, 1a и 2 — по 5,7%. Частота полиморфного варианта rs12979860 СС составила 72,2%, СТ — 27,8%, полиморфного варианта rs8099917 ТТ — 61,1%, ТГ — 23,2%. *Заключение.* При сочетании НСV 1b с полиморфными вариантами гена IL28B rs12979860 СС и rs8099917 СТ наблюдалось менее агрессивное течение болезни. С другой стороны, при инфицировании вирусом гепатита С с генотипом 3a лиц с полиморфизмом rs12979860 СС или rs809917 ТТ гена IL28B наблюдается более тяжелая клиническая картина. При наличии полиморфных вариантов rs8099917 Т/Г и rs12979860 С/Т наблюдались более тяжелые клинические исходы НСV-инфекции (вирусная нагрузка до 19035212 копий, цирроз с асцитом, гепатокарцинома).

Журн. микробиол., 2017, № 2, С. 86—92

Ключевые слова: вирусный гепатит С, генотип 2, генотип 1b, полиморфизм гена, интерлейкин 28В, гаплотипы СС, ТТ, ТГ